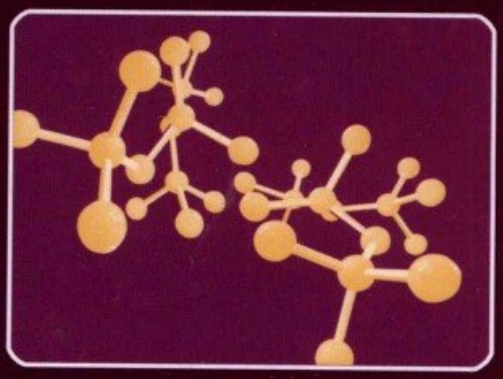
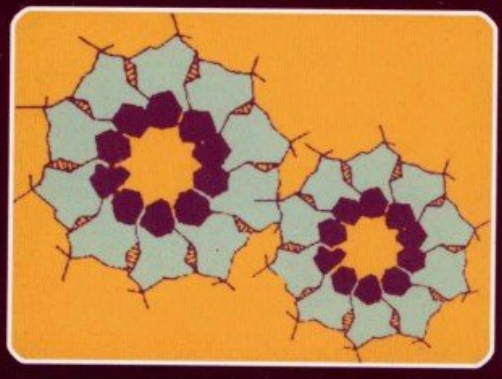
（原著第二版）

Encyclopedia of Pharmaceutical Technology

制剂技术百科全书

第三卷







主　编　〔美〕J.斯沃布里克
〔美〕J.C.博伊兰
主　译　王　浩　侯惠民

科学出版社
www.sciencep.com
informa healthcare

(R-2835.0101)

- 由200多位国际知名专家合作编写，被誉为药学工作者的“圣经”
- 由制剂领域的权威专家组织翻译
- 理论性强：详细阐述了与药剂相关的基本理论
- 实用性佳：众多的实例具有很好的实践指导作用
- 内容新颖全面：涉及药剂及其相关学科的各个方面，反映了这些领域的最新进展
- 适用面广：对从事药物制剂研究、教学和生产的药学工作者均有重要的参考价值

ISBN 978-7-03-023131-4
9 787030 231314 >

定价：680.00 元（共三卷）

制剂技术百科全书

Encyclopedia of Pharmaceutical Technology

（原著第二版）

第三卷

主　编　〔美〕J. 斯沃布里克
〔美〕J. C. 博伊兰
主　译　王　浩　侯惠民
副主译　陈桂良　陆伟根　陆伟跃

http://www.chinapat.com/
jjb2005精品书柜
No:　QQ 429122294
现代中药制药论坛
遗古
锋剑

科学出版社
北京

图字：01-2005-3962 号

内 容 简 介

本书为 *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 第二版的中文翻译版，涉及药剂学的各个方面，收录了当代药剂学以及相关领域权威学者的著作 200 多篇。在药物剂型的设计、开发、立法、生产以及商业化方面给予了较多关注，详细介绍了制剂技术，强调了生物药剂学、分析化学、质量保证、药物安全性以及生产过程在制剂领域的重要性。

本书内容翔实，参考文献丰富，理论性和实用性强。对从事药物制剂研究、教学和生产的药学工作者有重要的参考价值。

Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 2nd Edition, a three volume set
James Swarbrick, James C. Boylan
Copyright © 2002 by Marcel Dekker, Inc.
Authorized translation from English language edition published by Marcel Dekker, part of Taylor & Francis Group LLC. All rights reserved. 本书原版由 Taylor & Francis 出版集团旗下Marcel Dekker 出版公司出版，并经其授权翻译出版。版权所有，侵权必究。

Copies of this book sold without An Informa Healthcare sticker on the cover are unauthorized and illegal. 本书封面贴有 Informa Healthcare 防伪标签，未贴防伪标签属未获授权的非法行为。

图书在版编目(CIP)数据

制剂技术百科全书/(美)J. 斯沃布里克 (Swarbrick J.)，(美)J. C. 博伊兰 (Boylan J. C.)主编；王浩，侯惠民主译．原著第二版．—北京：科学出版社，2009

ISBN 978-7-03-023131-4

Ⅰ. 制… Ⅱ. ①斯… ②博… ③王… ④侯… Ⅲ. 制药工业-百科全书 Ⅳ. TQ46-61

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2008）第 153361 号

策划编辑：周巧龙 张淑晓 周 强 / 责任校对：钟洋等
责任印制：钱玉芬 / 封面设计：耕者设计工作室

科学出版社 出版
北京东黄城根北街 16 号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com

中国科学院印刷厂 印刷
科学出版社发行 各地新华书店经销

2009 年 1 月第 一 版 开本：889×1194 1/16
2009 年 1 月第一次印刷 印张：174 3/4
印数：1—2 000 字数：6 542 000

定价：680.00 元（共三卷）
（如有印装质量问题，我社负责调换〈科印〉）

翻译委员会

（以姓氏拼音排序）

陈　钢　上海市食品药品检验所，主任药师
陈桂良　上海市食品药品检验所，主任药师
戴经铨　上海医药工业研究院，研究员
杜敏琼　上海医药工业研究院，研究员
傅　民　上海现代制药股份有限公司，高级工程师
葛庆华　药物制剂国家工程研究中心，研究员
龚　忠　上海现代制药股份有限公司，高级工程师
何　军　上海医药工业研究院，副研究员
贺　芬　药物制剂国家工程研究中心，研究员
侯惠民　药物制剂国家工程研究中心，研究员，中国工程院院士
乐　健　上海市食品药品检验所，副主任药师
刘　浩　上海市食品药品检验所，主任药师
陆伟根　上海医药工业研究院，研究员
陆伟跃　复旦大学，教授
潘　俊　复旦大学，副教授
唐黎明　上海市食品药品检验所，主任药师
王　浩　药物制剂国家工程研究中心，研究员
王国平　上海医药工业研究院，研究员
王其灼　上海医药工业研究院，研究员
徐信昌　药物制剂国家工程研究中心，高级工程师
杨福秋　上海医药工业研究院，研究员
易大年　上海医药工业研究院，研究员

翻译人员

（以姓氏拼音排序）

鲍　英	蔡宏奎	蔡培林	柴旭煜	常　艳	陈　昂
陈　芳	陈　卫	陈　燕	陈　阳	陈桂良	陈满仓
陈志明	陈祝康	程志红	邓万定	丁存刚	杜敏琼
杜　玥	傅　民	高　凡	高东雁	葛庆华	龚　忠
龚明涛	韩　雪	何　军	何　萍	何　蔚	贺　芬
贺　宁	洪赟飞	侯惠民	侯　建	胡蓉梅	黄　冲
黄　卓	简龙海	金　樑	金　蔚	金玉琼	乐　健
李　翀	李　丁	李　杰	李　军	李　明	李　妍
李瑞新	刘　丹	刘　敏	刘小叶	刘笑芬	卢文芸
吕坚伟	栾福成	栾瀚森	罗大忱	罗宏伟	罗华菲
马少华	潘　峰	潘　弘	潘　俊	邱维佳	裘　渊
沈航孝	盛民立	石敬敏	宋浩亮	孙冠男	唐海霞
陶芸莺	滕　洋	万丽卿	王　浩	王　娟	王国平
王莉莉	王恬力	王文苹	魏　刚	闻洪亮	吴金金
吴小虎	吴晓盈	奚　泉	谢　操	谢家树	熊龙启
徐　楠	徐　喆	严幼达	羊　臻	杨　莉	于垂亮
岳　鹏	战　丹	张　辉	张　军	张　柳	张春娜
张小红	张晓红	张毅兰	张玉波	赵　铁	赵　雁
赵惠清	赵晓群	赵炎龙	支晓瑾	周　洁	周　臻
周明眉	周晓丽	周晓通	周玉波	朱　娟	朱　萍
祝　林					

中 文 版 序

药物制剂学科在近些年发展迅速，成为新药研发技术链上越来越重要的一环。药剂这门应用学科涉及剂型设计、生产设备、分析测试和法规管理等各个方面，需要技术人员有较广的知识面。

美国 Marcel Dekker 出版公司出版的 *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* 是一部全面介绍制剂及相关领域各个方面的专业知识的百科全书。原书通俗易懂，著者都是该领域的权威学者，并附有大量的参考文献。

本书涵盖与制剂相关的剂型的设计与制备、分析测试技术、美国和全球的法规要求、中试工厂和制剂设备的设计、药物临床试验的管理、药品的推广和促销等各个方面。对于药剂学科的学生或技术人员都有较高的参考价值。

本书的主译和副主译等均是在药剂学领域从事多年科研和教学的药剂专家，有较丰富的经验。在他们的组织下，由我院药物制剂国家工程研究中心和制剂部、上海市食品药品检验所、复旦大学药学院以及我院所属上海现代制药股份有限公司的众多人员集体翻译了这部篇幅宏大的专著。这种努力，值得称赞。

相信本书的出版，必将有益于我国制剂的科研、生产和教学。

朱宝泉

上海医药工业研究院院长，研究员，博士生导师

2008 年 2 月

译 者 说 明

《制剂技术百科全书》包含了药剂学的各个方面，收录了当代药剂学以及相关领域权威学者的著作。原书第一版的第一卷于1988年出版，最后一卷于2001年出版。这套一共20卷的百科全书包括正文、图示、表格、参考文献以及索引一共9000多页，涵盖了300多个条目，范围非常宽。第二版在药物剂型的发现、开发、立法、生产以及商业化方面给予了更多关注。不仅详细介绍了制剂技术，还强调了生物药剂学、分析化学、质量保证、药物安全性以及生产过程，但没有把注意力停留在某一个或某一类药的化学和（或）药理学层面。

第二版将近300个条目重新分类整理，使其更有序，便于查阅。同时，将卷数减少到了3卷，每卷都有1000多页，3卷同时出版。新版是旧版的浓缩版，但其内容是一致的。第二版中收录的旧版条目内容都加以更新，还增加了一些新的条目。同时，旧版中的一些相关的条目也被重新整理归到第二版的同一个条目下，反之亦然。条目的调整反映了药剂学科特定领域的最新进展。与旧版相同，第二版的著者都是该领域的权威学者。在第二版于2002年出版后又相继出版了增补本，增加了40多个条目。

在科学出版社的大力支持下，我们决定将这部优秀的书籍介绍给我国的药学科技人员。为此我们组织了药物制剂国家工程研究中心、上海医药工业研究院、上海市食品药品检验所和复旦大学药学院等单位的工作人员及部分研究生进行全书的翻译。

本书的翻译工作得到了上海医药工业研究院老一辈专家王其灼、杨福秋、易大年、戴经铨等的大力支持。科学出版社的编辑为本书的出版也付出了大量的心血。药物制剂国家工程研究中心的栾瀚森、徐瑛、刘笑芬编制了本书的索引，滕洋翻译了原书全部的插图。在此一并致谢。

在本书的翻译过程中，原著第三版已于2007年10月出版了。经过对比，第三版与第二版相同的条目，除了法规部分外，技术部分的修订幅度不大，但增加了50多个条目。希望以后有机会再将这50多条以增补本的形式介绍给大家。

由于原著篇幅很大，翻译、校对的工作量很大。原著内容涉及面广，限于译者的水平，错误和不准确的内容在所难免，希望国内广大药学工作者予以批评指正。

王 浩 侯惠民

2008年10月

英文版前言

近年来，药剂学科和技术得到了很大的发展。越来越多的人认识到药物剂型对疾病治疗的重要作用，同时也认识到优化药物在体内的传释过程能推动治疗学的发展。因此，越来越多的专业人员投入到药物及其剂型的设计、研发、生产、测试和法规建立的各个环节，药剂专业水平也在不断提高。

《制剂技术百科全书》是一本独一无二、通俗易懂的药剂学科百科全书，它涵盖了药物制剂技术各个方面的专业知识。对于进行药剂学相关课题的初期准备或者是为了提高某方面专业知识和水平的人来说，都能从本书中找到需要的信息。

17 年来，我们一直在整理相关资料，同时也与相关作者保持联系。1988 年《制剂技术百科全书》第一版诞生了，第一版的最后一卷（第 20 卷）也于 2001 年出版。该书出版后，其实用性得到了大家的认可，于是我们着手准备第二版。第二版涵盖了药剂及其相关领域的最新进展，该书不仅印刷出版，也可以从网上获得，并且每季度都会更新并进行扩充。

《制剂技术百科全书》印刷版共 3 卷，3000 多页，由 200 多个主题条目组成。每篇文章都是由相关领域的专家撰写的，反映了该领域的最新研究进展。

《制剂技术百科全书》电子版包括了印刷版的全部内容，并且还提供了关键词搜索引擎以及彩色图示。新加入的条目以及修订条目会每季度更新并且将更新内容以电子版形式提供给用户。

在此，我们要感谢在本书撰写和印刷过程中无数给予过帮助的人们。特别要感谢本书各位作者的努力。许多作者撰写了多篇文章。显然，没有这些世界级科学家的聪明才智和辛勤工作，就没有《制剂技术百科全书》的诞生。

出版商 Marcel Dekker，Inc. 一直以来都对我们的工作很支持，在编辑出版方面给了我们很大的帮助。特别要感谢百科全书编辑部的经理 Carolyn Hall，她的鼎力相助使本书得以顺利出版。

最后，我们也不会忘了要感谢你们，亲爱的读者朋友们，感谢你们一直以来的关注和支持。希望本书能让你们满意。同时，也随时欢迎你们的批评指正。

James Swarbrick
James C. Boylan

目　录

中文版序
译者说明
英文版前言

第一卷

半固体制剂 …… 1
保证药品质量的微生物学 …… 15
层流设备的应用和操作 …… 23
超级崩解剂的性质及其作用 …… 38
超声波雾化器 …… 51
承包生产 …… 58
处方药与非处方药的广告及促销 …… 66
代谢物鉴定在药物发现中的应用 …… 73
单克隆抗体在药物靶向给药系统中的应用 …… 79
滴定测量法 …… 99
淀粉及其衍生物 …… 111
电位分析 …… 117
锭剂 …… 129
定量吸入剂 …… 133
动物在药物研发中的作用 …… 146
对受控生产过程的微生物监控 …… 156
多肽和蛋白质的非侵入性给药 …… 170
多肽和蛋白质的经皮吸收 …… 185
多肽及蛋白质的肺部吸收 …… 198
儿科用药和剂型 …… 207
耳用制剂 …… 224
翻转混合器中的混合与分层 …… 232
仿制药物及其等效性 …… 245
放射性化学分析方法 …… 249
非处方药 …… 259
非环糊精类药物复合物技术 …… 272
非临床研究质量管理规范综述 …… 280
非注射给药剂型 …… 287
分配系数 …… 297
分析方法的验证 …… 303
粉末和固体制剂用赋形剂 …… 320
粉末剂型 …… 329
粉末取样 …… 338
辐照灭菌法 …… 346
赋形剂：安全性评价 …… 355
赋形剂：在注射剂中的作用 …… 360

FDA：药品管理者 …… 380
干粉吸入剂 …… 388
干粉吸入剂：新兴的技术 …… 399
干热灭菌法 …… 405
干燥和干燥设备 …… 410
工艺放大和产品批准后的变更 …… 422
共沉淀和熔融 …… 426
固体材料的流动性 …… 432
光谱分析方法：红外光谱学 …… 450
光谱分析方法：近红外光谱技术 …… 461
光谱分析方法：漫反射光谱分析 …… 466
光谱分析技术：荧光光谱法 …… 475
光谱分析技术：原子吸收和发射分光光度法 …… 488
光谱分析技术：质谱法 …… 494
光谱分析技术：紫外可见分光光度法 …… 506
过滤器和过滤 …… 517
含有明胶的制剂的溶出特性改变 …… 525
罕用药物 …… 538
化妆品及其与药物的关系 …… 544
环糊精包合技术 …… 550
环氧乙烷灭菌法 …… 575
混悬剂 …… 583
火焰光度法 …… 593
极谱分析和伏安法分析 …… 596
挤出工艺和挤出设备 …… 606
计算机系统的验证 …… 618
计算机药物辅助设计 …… 623
剂型的发展历史及基本制剂知识 …… 638
剂型设计的理化途径 …… 661
胶体和胶体释药系统 …… 669
结晶对产品开发、加工和性能的重要性 …… 679
近红外光谱法用于片剂评价 …… 695
经皮给药中的超声促渗 …… 704
晶癖的改变和剂型的性能 …… 715
镜片护理产品 …… 726
均质和均质机 …… 735
颗粒的粒径分析 …… 742
可生物吸收聚合物 …… 754
口服固体制剂的薄膜包衣 …… 762
口服固体制剂的熔融工艺 …… 779
口服液体制剂 …… 783
蜡 …… 792
老年人用药剂量和剂型 …… 801
类脂在药剂学中的应用 …… 816
冷冻干燥 …… 827
冷冻干燥的工艺放大 …… 847
冷却工艺和冻结技术 …… 859
离子导入 …… 869
量热技术在药物研究与开发中的应用 …… 879

临床数据管理系统 …… 889
临床药动学和药效学 …… 896

第二卷

临床用药品生产的 GMP 要求 …… 911
流化床制粒 …… 917
酶联免疫测定法及相关生物分析法 …… 923
美国国内的医疗保健体制 …… 936
美国以外的医疗保健体制 …… 944
免疫分析 …… 950
纳米粒给药系统 …… 961
凝胶和冻胶 …… 976
凝聚和相分离 …… 990
欧洲药品评价委员会 …… 1003
泡腾制剂 …… 1008
片剂处方 …… 1018
片剂的测定 …… 1027
片剂的生产 …… 1034
前药设计 …… 1049
潜溶剂和潜溶 …… 1054
确定失效日期 …… 1065
热分析在药物及药物制剂中的应用 …… 1071
热熔挤出技术 …… 1094
热原和细菌内毒素检查 …… 1108
溶出度和溶出度试验 …… 1118
乳剂和微乳 …… 1127
软胶囊 …… 1141
色谱分析技术：薄层色谱法 …… 1150
色谱分析技术：高效液相色谱法 …… 1162
色谱分析技术：气相色谱法 …… 1171
伤口包扎敷料 …… 1218
设备清洁 …… 1229
生物技术和生物产品 …… 1238
生物体液分析 …… 1246
生物药剂学 …… 1255
湿热灭菌法 …… 1268
世界卫生组织（WHO）继续全球协调对医药产品的要求 …… 1277
手性光学分析法 …… 1280
兽用剂型 …… 1294
树状大分子 …… 1321
水凝胶 …… 1339
肽类和蛋白质类药物的口服吸收 …… 1356
肽类和蛋白质类药物的口腔黏膜吸收 …… 1369
替代药物 …… 1381
统计过程控制和工序能力 …… 1394
统计学方法 …… 1404
危险化学品和药品的处理 …… 1416
微球技术及其应用 …… 1420
微生物鉴别用 DNA 探针 …… 1430

无菌操作及其工艺验证 …… 1438
无纸文档系统 …… 1448
吸收促进剂 …… 1459
现代调剂学 …… 1465
先进的无菌工艺：吹瓶-灌装-封口 …… 1476
香料和矫味剂 …… 1481
项目管理 …… 1490
血液替代品：碳氟化合物途径 …… 1498
血液替代品：血红蛋白氧载体 …… 1513
X 射线粉末衍射法 …… 1534
压片的模具 …… 1546
压片工艺的机器原理、设计及故障处理 …… 1558
压片机的仪器化 …… 1571
牙科用品 …… 1590
研发密集的制药工业的经济特征 …… 1603
药代动力学：食物和禁食的影响 …… 1606
药典标准：美国药典和国家处方集 …… 1616
药典标准：日本药典 …… 1628
药典标准的协调 …… 1632
药典标准：欧洲药典 …… 1641
药品的包装材料：玻璃 …… 1646
药品的保存 …… 1658
药品的微生物控制 …… 1665
药品的质量保证 …… 1673
药品及药物系统中的表面活性剂 …… 1681
药品临床试验管理规范（GCP）概述 …… 1692
药品生产质量管理规范（GMP）概述 …… 1697
药品中的顶空氧分析 …… 1702
药品中的水分 …… 1710
药品主文件 …… 1723
药物不良反应 …… 1727
药物的安全性评价 …… 1736
药物的蛋白结合 …… 1752
药物的多态现象 …… 1763
药物的光解作用 …… 1771
药物的剂量确定：给药方案和剂量应答 …… 1777
药物的临床评价 …… 1786
药物的生物合成 …… 1794

第三卷

药物的生物利用度和生物等效性 …… 1821
药物的生物转化 …… 1829
药物的水解 …… 1839
药物的外包 …… 1844
药物的吸收 …… 1860
药物分析中的电化学检测 …… 1870
药物及其制剂的吸水性 …… 1887
药物开发的管理 …… 1900
药物开发中的遗传因素 …… 1910

药物开发中先导物优化的分子和细胞途径 …… 1918
药物滥用 …… 1927
药物设计的基本原理和应用 …… 1935
药物受体：在后基因时代的发现 …… 1942
药物输送：鼻腔给药 …… 1957
药物输送：肺部给药 …… 1963
药物输送：局部和透皮给药 …… 1969
药物输送：控制释放 …… 1981
药物输送：口服结肠定位给药 …… 2000
药物输送：口服途径 …… 2012
药物输送：口腔黏膜途径 …… 2030
药物输送：脉冲系统 …… 2039
药物输送：眼部途径 …… 2048
药物输送：阴道途径 …… 2056
药物输送：直肠给药 …… 2078
药物输送：注射给药途径 …… 2088
药物输送中的黏膜黏附水凝胶 …… 2098
药物输送中的液态结晶 …… 2111
药物相互作用 …… 2125
药物信息系统 …… 2131
药物在水性溶媒中的增溶 …… 2136
药物制剂用赋形剂 …… 2156
药物治疗方面的错误 …… 2166
药学单元操作的原理 …… 2176
药学数据的数学建模 …… 2188
药学中的单元过程操作 …… 2198
药用辅料测试：法规和临床前的观点 …… 2219
药用隔离装置 …… 2229
药用气雾剂的放射性标记及用于肺部沉积试验的γ射线闪烁扫描成像技术 …… 2235
药用植物 …… 2243
药用着色剂 …… 2253
液雾剂 …… 2270
异构现象 …… 2290
疫苗及其他免疫产品 …… 2307
影响口服药物输送的生理学因素 …… 2324
硬胶囊 …… 2332
用于药物输送的单克隆抗体 …… 2343
用于制剂产品开发的专家系统 …… 2358
张力 …… 2375
蒸发与蒸发器 …… 2384
蒸汽灭菌法的生物验证 …… 2391
致癌性试验的历史、现状和前景 …… 2399
质量体系管理 …… 2410
直接压片 …… 2415
制剂工艺验证 …… 2424
制剂技术转化的考虑因素 …… 2434
制剂中的流变学 …… 2440
制丸技术 …… 2454
制药工业用弹性体 …… 2464

制药工业中的工艺化学 …… 2476
制药工业中的滚压制粒技术 …… 2486
制药技术中的二次电镜法 …… 2500
制药技术中的核磁共振波谱学 …… 2528
制药领域中的计算机 …… 2543
制药设备的电力系统 …… 2552
制药设备的腐蚀 …… 2557
制药设备用材料 …… 2568
制药用水 …… 2573
中试工厂的设计 …… 2581
中试工厂的运转 …… 2592
注射剂 …… 2604
注射剂无菌工艺的病毒灭活问题 …… 2613
专利：国际观点 …… 2627
专利：美国观点 …… 2636
自氧化和抗氧剂 …… 2645
最优化方法 …… 2658
作为药物载体的可生物降解聚合物 …… 2670
ZETA 电位 …… 2683
索引

Y

药物的生物利用度和生物等效性

James T. Dalton
The Ohio State University, Columbus, Ohio, U. S. A.
Marvin C. Meyer
University of Tennessee, Memphis, Tennessee, U. S. A.

引言

美国食品药品监督管理局对生物利用度的定义是“药品中的活性成分或活性组分吸收进入体内到达作用部位的速度和程度”[1-3]。因为实际上极少能在作用部位测定药物的浓度（如在受体位点），所以生物利用度通常定义为“活性成分或有效组分进入治疗部位的速度和程度（量）的指标”。通常生物利用度指的是口服制剂给药后药物在胃肠道的吸收。口服剂型有很多种，包括溶液剂、混悬剂、片剂、胶囊剂、粉剂或酏剂。生物利用度还指药物经其他途径给药时的吸收，如肌内注射剂、透皮贴剂、软膏剂和其他局部用制剂，还有埋植剂，也需要首先吸收再进入体循环。由于这些给药途径（如口服、肌内注射和局部给药）把药物释放到血管系统以外的部位，通常称为血管外给药，而唯一生物利用度总能达到100%的给药途径就是静脉注射，进入体循环的药量与给药剂量相等。

术语“相对生物利用度”指的是两个或多个剂型间相对吸收速度和程度的比较。如果把一种药物的静脉注射剂当作参比制剂，就可以测定该药物其他试验制剂的绝对生物利用度。两个剂型间的吸收速度和程度没有明显的差异就称其为生物等效。

一般而言，生物等效性评价涉及的是等价制剂（pharmaceutical equivalent）间的比较。所谓等价制剂的定义为“同一剂型的含有等量同一活性药物成分的制剂产品，如含有同一治疗组分的相同的盐或酯，但不需含有相同的其他非活性成分，并符合同一质量要求或标准，包括鉴别、剂量、含量、纯度、效价、含量均匀度、崩解时限或溶出度等[1-3]。”

生物等效测定也可用于替代制剂（pharmaceutical alternative），所谓替代制剂的定义为“含有同一治疗组分或其前体，但不一定含有相同的量，也不一定是同一剂型或是相同的盐和酯的制剂产品。每种制剂产品要符合同一或各自的质量标准，包括鉴别、剂量、含量、纯度、效价、含量均匀度、崩解时限或溶出度等”。在某些情况，两个替代制剂表现出显著不同的生物利用度，如酏剂的吸收很快，而胶囊剂的吸收就相对比较慢。在其他情况中，两种剂型（如片剂和胶囊剂）有可能表现出非常相似的或者不同的生物利用度。

影响药物生物利用度的因素

血管外给药的药物必须透过几道屏障才能进入体循环或到达其作用部位。许多研究表明，生产过程中的差异和制剂的组成都可以影响药物的生物利用度。此外，患者的生理状况和其他一些因素，如胃肠道中的内容物，对药物的生物利用度也都有影响。表1总结了口服固体制剂在体内的处置步骤和各个步骤的实验评价方法。这里简要讨论影响某一剂型生物利用度的因素，将在本章的其他地方有更详细的讨论①。

表1 口服固体制剂的体内处置和评价

体内处置的步骤	试验评价方法
制剂到达胃/肠	pH的测量或闪烁描记法
制剂崩解成小颗粒[1)]	体外崩解试验
药物在胃肠液中溶出	体外溶出度试验
药物到达胃肠壁/膜	
药物通过P-糖蛋白流出泵转运回胃肠腔道	体外药物转运研究
药物被肠内的代谢酶代谢	体外药物代谢研究
药物被吸收进入肝血液循环	原位/体内肝灌注法研究
药物进入体循环	药物在血液、血浆或血清中的测定
药物经尿液排泄	尿液中药物排泄的测量
药物被代谢	血液或尿液中代谢产物的测量
药物或其活性代谢物到达作用位点引起药理反应	
引起与预期治疗效果无关的药理反应	药理反应的起始时间、持续时间和强度的测量
引起预期的临床反应	患者中药物临床功效的测定

1）有些剂型设计意图是要保持完整形态（如某些控释产品）。

药物的溶出速率是决定一个口服制剂生物利用度的主要因素。只有在溶液中的药物才能被胃肠道吸收。即使是口服的溶液剂，如果药物在胃肠道溶液中由于溶解度较低

① 见本书药物的吸收和生物药剂学两章。

而沉淀，这时药物就需要有一个溶出的过程。

1. 制剂处方

大多数药物都是按处方制成一定的剂型后给药，而不是以纯化合物的形式给药。这时药品或是一个相对简单的溶液剂，或是含有黏合剂、填充剂、润滑剂、着色剂和类似组分的压制片剂，或是一个控释制剂。以下是一些能影响药品生物利用度的处方和制备因素：①药物的性质，包括盐的类型、晶型、溶剂化物的形成、溶解度；②剂型的组成，有无辅料或特殊包衣；③生产工艺因素，压片的力度、工艺参数、药物或辅料的粒度、环境条件；④在胃肠道中的溶出速率或溶出位置。

2. 影响生物利用度的生理学因素和其他因素

服用药品的患者或受试者的生理因素，也能影响药物吸收的速度和程度。这些因素很重要，需加以考虑，因为这些因素是导致治疗中个体自身和个体之间差异性的原因，如果在生物利用度研究中不能很好地控制这些因素，就有可能造成结果的偏差，混淆数据的解释。

这些因素包括：①胃肠道中的内容物、胃肠道溶液的体积和 pH、日常饮食、食物的存在与否、细菌活性、其他药物的存在；②胃肠道的运转速率，受疾病、体力活动、药物、受试者的情绪状态和胃肠道内容物的组成影响；③进入系统前的药物代谢或降解，受局部血流量、胃肠道膜的状态、药物在胃肠道或首次经过时肝代谢和降解的影响；④年龄、性别、种族疾病、体型大小、时间和体力活动。

其他一些与受试者相关的、尚未认知或未加以控制的因素，也能影响到药物生物利用度和产品生物等效性的评价。例如，生物利用度研究是通过收集血液或尿液样本来测定药物在体循环中的浓度。因而，生理学上和药物代谢动力学上的扰动，能影响液体中药物浓度的测定，进而潜在地影响研究结果和研究结论。例如，包括以下这些因素的改变：①药物代谢的速率、程度和途径，如同时服用的药物对代谢酶的竞争或诱导作用；②药物经肾脏消除的速率和程度，如肾脏疾病或影响肾脏转运机制的竞争作用和尿液 pH 的改变；③药物的血浆或组织蛋白结合率，如血浆蛋白随年龄的相关变化或蛋白结合的取代；④药物的分配进入红细胞。肝脏药物代谢酶的遗传多态现象，也可能是引起药物的代谢动力学和生物利用度研究结果巨大差异的原因所在[4]。一个精心设计的生物利用度研究必须很好地控制或解释上述这些因素的影响。

药物的性质与其极可能潜在的生物利用度问题

在市场上销售的药品中，已知有严重生物利用度问题的产品数目是很少的。因而，有一种观点认为我们过分强调了生物利用度的问题，大多数药品的生物利用度是无须担忧的。另一个观点则认为那些在严谨受控的研究中发现有生物利用度缺陷的药物产品，足以证明很多尚未经研究的药品可能潜在生物利用度问题。

除了极少数的例子外，FDA 要求药品的生物利用度和生物等效性都必须经过体内试验研究加以验证。然而，最近提出来的一个生物药剂学分类系统（BCS），把药物按其溶解度、渗透性和体外溶出速率进行分级[5]。这个分类系统或许能够用来证明“那些活性组分或成分为易溶的、高渗透性的，并且能快速溶出的药品”可以不用进行体内试验的验证。如果这个分类系统为 FDA 所采用，则以后药品的生物利用度和生物等效性问题，可以通过体外的溶解度、渗透性和溶出研究来验证其是否符合要求。当然，那些渗透性低、溶解度小的药物，制成溶出缓慢的剂型，更有可能出现生物利用度问题，而不能免做体内生物利用度试验。

FDA 公布了如下的一个证据汇总，可以用来评估某一给定药物生物利用度的重要性[3]。

（1）来自临床试验或生物等效性研究的数据表明生物等效问题存在。

（2）药物的治疗窗比较狭窄，患者体内的药物浓度须谨慎调节的。

（3）缺乏生物等效研究，有可能引起严重的医疗事故的。

（4）物理化学的证据表明：

- 药物在水中的溶解度较低或是药物在剂型中的溶出速率较慢；
- 药物的粒度、晶型结构和其他一些因素能影响药物的溶出速率和生物利用度；
- 药品中所含辅料的比例较活性成分高的，或是产品中需加入能提高或抑制吸收的辅料的。

（5）药物代谢动力学的证据表明：

- 活性药物的吸收局限于胃肠道特定区域的；
- 吸收程度较低的；
- 代谢比较快而需要快速溶出和吸收发挥药效的；
- 需要特殊工艺来使药物在胃肠液中稳定的产品；
- 表现出剂量依赖性药动学特征的药物。

一些符合以上一条到多条标准的药物，以及市售剂型中生物利用度表现出显著差异的药物包括：地高辛、奎尼丁、呋噻米、呋喃妥因、泼尼松、氯霉素、茶碱、氯丙嗪、苯妥英、阿米替林和保泰松等。

生物利用度的实验测定方法

1. 研究的类型

测定一个药品的生物利用度和生物等效性有若干个方法。绝大多数的生物利用度研究是将试验制剂在一组健康受试者中投放给药，然后采集血样（血浆或血清），测定血样中的药物浓度。第二个比较常用的方法是利用尿的排泄进行测定。偶尔，我们也会采集其他生物样本，如唾液、

脑脊液、胆汁和粪便排泄物进行测定。对少数药物而言，体液中的药物浓度无法测定，可以用药理效应法进行测定。最后，我们可以测定患者的治疗效应，对某一剂型做出生物利用度的评估。然而，这种类型的研究是局限于那些在给药部位（如局部给药）起作用，而不是起全身性作用的药物。为申报 FDA，要提交药品的生物利用度或生物等效性研究报告，认可的研究方法有药物动力学、药效学、临床和体外试验研究。

1.1 血药浓度研究

血药浓度研究主要是基于这样的假设：两个剂型如果在一组受试者中表现出重叠的血药浓度-时间关系，那么对患者的治疗效果也应该是相同的。图 1 是一口服药品理论上的血药浓度-时间关系曲线。在图 1 曲线上所要关注的关键参数是最大血药浓度（c_{max}）、达到最大血药浓度的时间（T_{max}）和血药浓度时间关系曲线下的总面积（AUC）。T_{max}的数值表示药物的吸收速率。T_{max}与吸收药量无关，但与药物的吸收速率负相关。因而，药物吸收越快，T_{max}就越短。T_{max}的数值也受药物从体内消除的速率影响。然而，当在某一特定受试者身上试验两个或多个剂型时，如果假定这时的药物消除速率不发生改变，那么所观察到的 T_{max} 数值的差异就反映了试验产品间吸收速率的差别。对 c_{max} 含义的解释就相对比较复杂了，因为它同时是药物吸收速率、吸收程度和消除速率的函数。因此，假定药物的消除速率不变，那么 c_{max} 的数值就随吸收药量的增加或药物吸收速率的增大而增大。药物吸收程度的测定通常基于 AUC 的测量，AUC 与进入体循环的药量成正比，而与药物的吸收速率无关。我们通常用线性梯形法计算 AUC，如图 1 所示。血药浓度-时间曲线被分成一系列的几何图形，每一图形下所包围的面积可用梯形法测定：

$$AUC = 1/2 \times (\Delta t) \times (c_1 + c_2) \quad (1)$$

式中：Δt 为两个浓度 c_1 和 c_2 血样采集时间的间隔。AUC 的单位与药物浓度和时间相关。如果血样采集的时间不够长，最后一个样本的药物浓度不为零，那么就有必要对最后一个样本之后的血药浓度-时间曲线下面积进行估计。方程（2）给出了 AUC（0～t）（即血药浓度-时间曲线从 0 到最后采样点时间 t 下的面积）和总的血药浓度-时间曲线下面积 AUC（0～∞）之间的关系：

$$AUC(0 \sim \infty) = AUC(0 \sim t_{last}) + c_{last}/K \quad (2)$$

式中：c_{last}为最后一个可以测量的血药浓度点；t_{last}为其采集的时间；K 为表观一级消除速率常数，即血药浓度的对数对时间作图所成末端直线的斜率。在研究中，若涉及血药浓度峰值后的取样间隔较药物的半衰期长时，则推荐用对数梯形法来估计峰后的 AUC[6]。

AUC（0～∞）的值也可以用方程式（3）表示：

$$AUC(0 \sim \infty) = FD/CL \quad (3)$$

式中：F 为给药剂量的吸收分数；D 为给药剂量；CL 为药物的全身总清除率。因此，基于 AUC（0～∞）间的比值，可以对两个不同的剂型做出比较。假定给予相同剂量，且在分别给药的时间内，药物的清除率保持不变，那么两个剂型 AUC 间的比值与各自的吸收分数（即吸收程度）的比值成正比。

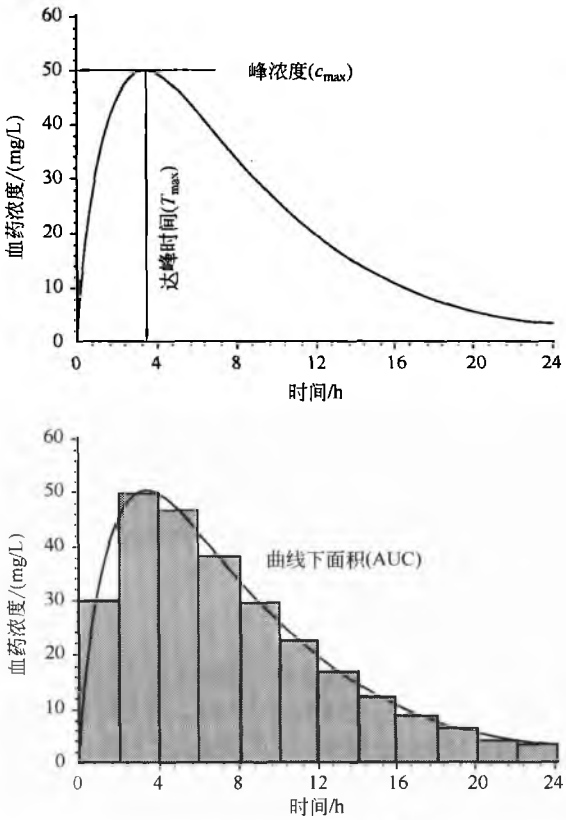


图 1 血药浓度-时间关系曲线图解 c_{max}、T_{max}和 AUC 的计算

图 2 给出了在某一药物三个不同的生物不等效制剂试验中得到不同类型的血药浓度-时间关系。产品 A 和 C 的 T_{max}相同，因此吸收速率相同，而产品 B 的吸收就比较慢，表现在其达到最大血药浓度 c_{max}所需的时间较长。产品 A 和 B有相似的 AUC 值，显示其吸收程度相同。产品 C 的 AUC 值较低，显然其吸收比较不完全。

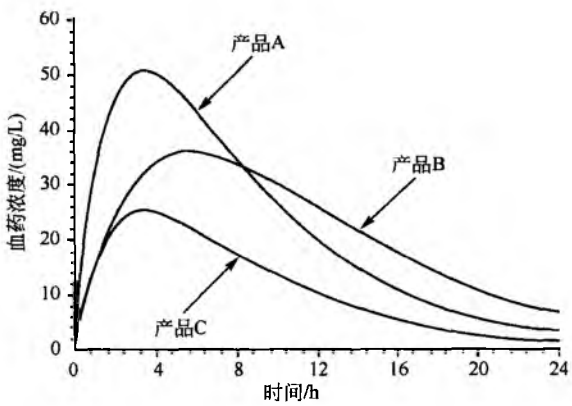


图 2 单剂量给药后的血药浓度-时间关系。产品 A 快速完全吸收；产品 B，吸收较慢但吸收完全；产品 C，快速吸收，但只有 A 制剂和 B 制剂吸收的一半

Y

前面所有的讨论都是假定药物的吸收和消除动力学不具有剂量依赖性。例如，如果某一药物的代谢是一个可饱和的过程，那么其快速吸收剂型的 AUC 可能会有一个明显的增加，因为其初始的血药浓度超过了机体消除药物时的代谢容量。药物与血浆蛋白或组织蛋白非线性结合所引起的药物消除率的改变，也可能是引起非线性药物动力学的原因。因此，对某些药物，如丙吡胺，AUC 的增加与给药量不成比例[7,8]。这是药物浓度增加时药物结合下降的结果。因此，在丙吡胺的生物等效研究中，有必要对血浆中游离药物的浓度进行测定，而不是总的药物浓度（游离药物＋结合药物）。Tozer 和 Tang-Liu 已对引起非线性药物动力学和使生物等效数据结果解释复杂化的其他机制进行了综述[9]。对非线性药物呈现不重合的血药浓度-时间关系时，解释结果必须格外谨慎。此外，这种类型药物的生物利用度和生物等效研究需包含多剂量给药的实验设计，以对药物在稳态浓度时吸收速度和程度差别的影响进一步加以解释。

1.2 尿的排泄研究

基于尿中排泄的药量进行生物利用度评价，用以替代血样的采集是一个比较吸引人的方法，因为其具有无创伤性的特点。特别是对那些以泌尿系统为作用部位的药物特别有用（如泌尿道抑菌药物呋喃妥因和乌洛托品）。对于那些大部分以原形药在尿中排泄的药物也比较有用（如噻嗪类利尿剂和磺胺类药物）。通常测定尿中药物浓度分析方法的灵敏度较血中的低。如果某些尿样中的药物浓度比较低，这时要获得大量样品。尿排泄研究的主要缺点就是为了确保吸收药物的完全回收造成尿样收集时间较长。此外，受试者在每次收集时须注意完全排尿，确保尿样收集完全，并避免任何样本的意外损失。与血中浓度研究评价生物利用度一样，尿的排泄研究通常也假定药物的药物动力学不具剂量依赖性。如果排泄是一个可饱和过程，那么药物在尿中以原形药排泄的比例则可能无法反映药物吸收的速度和程度。

在尿的排泄生物利用度研究中要测定的三个主要参数是：①尿中原形药排泄的累积量（$\sum Xu$）；②最大尿药排泄速率（ER_{max}）；③达到最大排泄速率的时间（T_{max}）。在简单的药物动力学模型中，尿中出现药物的速度与体循环中药物的浓度成比例。因此，尿排泄研究中的 T_{max} 和 ER_{max} 类似于血中浓度研究中的 T_{max} 和 c_{max}。尿液中 T_{max} 的值随着药物吸收速度的增大而减小，ER_{max} 则随着药物吸收速度或吸收程度的增加而增大。$\sum Xu$ 的值与 AUC 相关，并随吸收程度的增加而增大。

排泄速率的计算方程式：

$$ER=(\sum Xu_2-\sum Xu_1)(t_2-t_1) \quad (4)$$

式中：$\sum Xu_1$ 和 $\sum Xu_2$ 分别为在尿样采集时间 t_1 和 t_2 时各自的药物累积排泄量。当以排泄速率（ER）对时间作图时，或在最大尿药排泄速率的测定中，时间的值应取尿样采集周期的中点，即时间点 t_1 和 t_2 两点间的中点。因此，对尿药排泄数据中得到 T_{max} 和 ER_{max} 进行评价，所能获得的关于药物吸收的信息要比从血药浓度关系分析中得到的少，这主要是受尿样采集频率的限制。

当采集完足够的尿样，确保无明显残余的药量继续经尿排泄后，用 $\sum Xu\infty$ 代表这时的药物累积排泄总量。那么两个剂型间药物的相对吸收程度就可以用两个 $\sum Xu\infty$ 间的比值来表示。$\sum Xu\infty$ 是吸收分数（F）、给药剂量（D）、肾脏消除常数（k_e）和全身消除常数（K）的函数，如方程式（5）所示：

$$\sum Xu\infty=FDk_e/K \quad (5)$$

1.3 其他生物样本的测定

对少数药物如茶碱而言，可利用唾液中的药物浓度作为血样采集的补充。然而，个体之间和个体自身在唾液血浆比值上的差异性，常常阻碍了只用唾液中药物浓度来评价的生物利用度。对某些药物如头孢菌类抗生素，临床上的研究还须包括测定其他体液中药物的浓度，如脑脊液和胆汁。

人们一开始会想，对口服药物吸收程度的评价只需对排泄物中药物的量进行测定。这样的测定偶尔也能提供有用的数据。例如，当给予受试者肠溶片或其他一些固体剂型后，产品在受试者的粪便排泄物中完整回收，那么存在产品生物利用度低的问题就没有太大的疑问。然而，对排泄回收试验中获得的数据，仍必须谨慎地分析解释。即使在粪便样本中分析检测到药物，这也不能确定药物没有被吸收。例如，有些药物经过充分的肝肠循环后在唾液中排泄，有些药物能够完全被吸收，但仍能在粪便排泄物中检出部分的药物。反过来讲，在粪便排泄物中没有检测到完整的药物产品也不能证明药物的吸收，因为药物有可能在胃肠道的运转过程中被降解掉。

1.4 药理效应法评价生物利用度

皮质类甾醇的局部应用，其血药浓度通常达不到可以测定的程度。因此，这些药物的生物利用度和生物等效测定可借助于皮肤用药时血管收缩（即皮肤黄化现象，一种药效的反应）来测量。有少数的研究尝试着把药物的药理效应和其口服生物利用度在量上关联起来。例如，血糖浓度的减少程度和持续时间，与甲苯磺丁脲两种剂型的生物利用度间存在的关系已被确定[10,11]。还有人把与试验药物没有必然关系的药理效应终点和治疗效应联系起来。例如，有人尝试把瞳孔直径的改变、心电图或脑电图读数等药理反应与某一确定药物在人体或动物体内的时程联系起来。然而，药理数据差异更大，把测到的效应和制剂的有效剂量很好地相关起来是很困难的。此外，还潜在这样的可能性，测到的药理反应是由药物的代谢产物引起的，而其浓度与产生治疗效应的母体药物浓度并不成比例。

1.5 用治疗效应评价生物利用度

药物疗法的最终目的是在患者身上产生治疗效应，因

此，药品功效理想的评价应在需要药物的患者身上进行研究。尽管如此，我们却常用健康志愿受试者而不是患者来进行研究，这是有原因的：第一，对患者临床反应的定量太不精确，以致无法合理地对同一药物两个剂型间的相对生物利用度进行评价。第二，生物等效研究通常采用交叉给药设计，每一受试者分别服用各个试验制剂，并假定在研究期间内，受试者的生理状态不发生明显的改变。然而，如果采用患者进行研究，这个假定就可能因患者疾病状态的改变而无法成立。第三，除非采用多剂量试验设计，否则，需用药物治疗疾病的患者只能够每隔几天，或每星期服用一次剂量。要避免这种问题，我们可以把每个产品分别在不同组别的患者身上试验，但这需要大量的患者和对不同的患者组别进行细心地匹配。第四，多数患者不只服用一种药物，由于药物间的相互作用，使得生物利用度研究所获得的结果说服力不够。最后，如果个别药物确实存在缺陷，就会出现伦理的问题。因此，这需得到需用某一药物进行治疗的患者同意，而服用那些可能无法提供足够治疗效果的药品。综合以上的这些考虑，结论就是大部分的生物等效研究应用健康受试者进行试验。然而，对于那些在给药部位起效，而不吸收进入体循环的药物，用患者进行临床试验是测定其生物等效的唯一手段。这样的研究通常采用平行试验设计，而不是交叉试验设计。例子包括局部抗真菌剂的研究、用于治疗痤疮的药物的研究和用于溃疡治疗的药物如硫糖铝的研究。

1.6 其他实验方法

FDA 现行的生物等效规程描述了几种不包含人体试验的实验方法[3]。

实验动物的使用：动物实验在生物等效测定中是不被接受的，除非从动物身上获得的数据与人体试验获得的数据相互关联，并确保该剂型在动物身上的生物利用度与其在人体上的紧密相关。动物与人是有区别的，如胃肠道的特征、新陈代谢作用、药物的分布分配和排泄作用。在固体剂型的研究当中必须使用相对较大的动物，如狗或猴子。虽然这样的研究在剂型的研制中可以提供有用的数据，也可替代人体试验中对毒性较大药物（如抗肿瘤药）的研究，但一般而言，动物实验在剂型的最终生物利用度评价中是不被接受的。

体外的方法：最近几年，人们对能模拟药物在胃肠道中崩解和溶出过程的实验室试验系统极感兴趣。这类装置的研制就是为了降低对人体试验的需求。把体内生物利用度数据和体外测试相联系的一种早期方法，是基于固体剂型在特定溶剂中的崩解时限试验。试验所使用的法定装置在《美国药典》（第 24 版）中有描述[12]。然而，这种方法所存在的问题就是，固体剂型崩解成小颗粒所需要的时间，并不必然的与药物的溶出速率相关。现行的《美国药典》（第 24 版）描述了一种法定的体外崩解装置（即可升降吊篮）和两种法定的溶出装置（即桨法和转篮法），用于固体剂型的评价[12]。虽然这些方法已经很好地建立起来，并且广泛使用，但确定的溶出数据与人体生物利用度数据间的体内体外相关性甚少。体外溶出试验作为药品质量监控和分辨制剂中哪一个存在生物利用度问题方面十分有用。然而，《美国药典》承认，许多影响药品体外溶出试验的处方因素，只是在某些时候会影响药物的体内生物利用度（即溶出试验能辨别出某一剂型特性中与其体内表现无关的一些细微差别）[12]。因此，某一给定剂型的体外溶出试验并不能假定与其体内生物利用度相关。

在进行溶出研究时，选择适合的溶剂十分重要。溶出实验所选用的条件应模拟胃肠道中的环境。有代表性的溶出研究中常用 0.1mol/L 的盐酸、水或缓冲液作为溶出介质。模拟胃液（pH 1.2）（含或不含胃蛋白酶）和模拟肠液（pH 6.8）（含或不含胰酶）的介质在体外溶出试验中也很常用。控释剂型的溶出具有 pH 依赖性是被广泛公认的。因此，FDA 推荐，控释剂型的溶出试验需在一个大的 pH 范围内进行，包括 pH 1～1.5、4～4.5、6～6.5 和 7～7.5，并测试多个时间点以更好地考察剂型的溶出特性[1~3]。含有考来烯胺树脂（用于控制胆固醇）的产品的生物等效测定，代表了一种新型的体外生物等效测定方法。这类药物的非专利产品是通过测定不同胆酸盐与树脂相互反应的速度和程度来进行体外评价的。

2. 试验设计

一个合适的生物利用度或生物等效研究设计是收集有意义数据所必需的。研究必须包括足够数目的受试者，血样或尿样的采集必须有适当的间隔以精确地考察药品的药物动力学特征，并对其生物利用度和生物等效作相关的统计结论。在其他因素当中，研究设计必须考虑研究人群的特征（如年龄、体重、性别、种族和健康状态）、给药周期、用膳、血样的采集、药品连续给药时的时间间隔（即清除期）。在牵涉两个或多个剂型的生物等效研究中，给药顺序也必须认真加以考虑，以使实验偏差减到最小。对试验设计和试验过程加以严格控制的目的，就是为了尽量减少伴随药物代谢动力学因素（如清除率、分布容量和吸收）和生理因素（如胃排空和 pH）的差异性，这样，研究中所观察到的差异性才能与考察中药物的表现更加相关。

2.1 交叉设计与其他设计

研究中最常用的是交叉设计，每个受试者分别服用各个试验产品。在这一设计中，剂型间、受试者和给药顺序间的差别都可容易地评价。本质上，每一受试者都是其自身对照。交叉设计还可尽量减少药物的残留或持续效应影响，这类效应是由于前一给药制剂对随后所给予药物的生物利用度的影响而产生的。

表 2 给出了一个包括 12 个受试者的交叉设计，用于三个剂型（A、B 和 C）的相对生物利用度评价。要注意的是，三个产品存在六个可能的给药顺序。此外，每一受试者都要分别服用三个产品，每一给药周期都包含三个产品。这样设计的价值在于使与受试者和给药顺序效应相关的偏

差减到最少。在重复研究设计中，每一受试者要多次服用试验制剂和参比制剂，目前它作为一种替代方法可用于制剂的生物等效评价。

表 2 生物等效性试验三交叉设计

项目	周期		
	第一周期	第二周期	第三周期
1 和 2	A	B	C
3 和 4	A	C	B
5 和 6	B	A	C
7 和 8	B	C	A
9 和 10	C	A	B
10 和 11	C	B	A

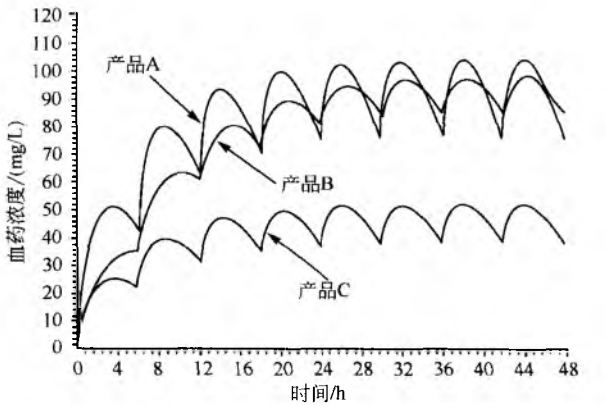


图 3 间隔 6h 依次给予 A、B 和 C 三种制剂后血药浓度-时间曲线。上述三种制剂同图 2

2.2 单剂量与多剂量研究

生物利用度研究中对药物处置的测定，尤其是新化学实体，必须包括单剂量和多剂量给药的研究。然而，大部分的生物等效研究对两个或多个剂型间生物利用度的比较，通常是在禁食条件下只对每个产品进行单剂量给药研究，而控释制剂的生物等效研究是个例外。FDA 要求其进行包括单剂量和多剂量的给药研究，并确定食物对药物吸收的影响[1-3]。然而，控释制剂在生物等效评价中必须进行多剂量研究的要求，在最近受到更多关注的时候却有可能被废弃，因为考虑到单剂量研究能提供更多灵敏的信息去评价这些产品的表现。

多剂量研究难以控制，并且受试者要接触更多的药物。然而，多剂量研究设计还是有其优点的。它更能代表患者用药的习惯，并且需要的血样较少，分析方法的灵敏度也不用太高。这样的研究需要足够数目的剂量来达到稳态，在稳态浓度时，药物吸收进入体内的量与药物从体内消除的量相等。一般的规则是必须连续给药大约 5 个生物半衰期，以达到稳态浓度的 95%之内。一旦达到稳态，一次给药间隔的血药浓度-时间曲线下面积应与单次剂量的 AUC (0～∞) 值相等（假定药物的消除不具剂量依赖性）。因此，要测定 AUC，必须获得稳态时一次给药间隔下的血样。每一研究周期所选择的用于采样的给药间隔应是一致的（例如，从早上 7 时到晚上 7 时，每隔 12h 给药）。因为药物的处置是能随每一天中时间的改变而改变的函数，将从早上 7 时到晚上 7 时测得的 AUC，与从晚上 7 时到早上 7 时测得的 AUC 进行比较是无效的。

图 3 给出了每隔 6h 给药的稳态研究结果。图 3 所示结果使用的药物代谢动力学数据与图 2 所用数据是相同的。研究结果证明了药物吸收速度和程度对稳态血浆浓度的影响。产品 C 较低的血浆浓度反映了其较低的吸收程度。产品 A 和 B 有相同的吸收程度，但吸收速率不同。产品 A 比产品 B 的吸收更快，因此，产品 A 在稳态时的浓度波动比较大。

2.3 其他的研究设计考虑

在设计研究时，或在生物利用度或生物等效研究的结果评价中，确定有足够数目的受试者进行研究，并采集足够数量的血样或尿样是很重要的。如大部分的科学研究一样，使用的受试者太少，能妨碍得出有意义的结论，使本来可以观察的显著差异无法显示出来。此外，如果取样间隔太大，则 T_{max}、c_{max} 或 ER_{max} 的值无法精确测定。还有，如果血样或尿样的采集过早终止，则不可能对药物的 AUC 或尿药累积排泄总量进行精确地评价。作为一般的规则，血样的采集时间需要至少 2～3 个生物半衰期，尿的排泄研究应包括 5～7 个生物半衰期的尿样采集时间。

如果研究牵涉到控释制剂，药物吸收时间延长了，则这些指导原则还要延长。如果不清楚药物的半衰期，一个合理的原则就是继续采集血样直到血药浓度降到峰浓度的 10%以下。类似地，尿样的采集也应持续到没有显著的药量在尿中排泄为止。典型的生物利用度研究使用的是 12～24 个或者更多的健康受试者，且要求其没有任何能影响试验药物处置的病史。受试者通常被要求在研究前一星期乃至更长，以及在研究的过程中停止服用除试验药物外的一切任何药物。某些药物，如酶诱导剂，能影响试验药物的处置。此外，还取决于测定方法的专一性，其他药物也可能干扰目标药物的定量。通常，受试者年龄一般为 18～40 岁，除非有特殊的原因需使用其他的受试群体。研究中应包括不同性别、不同种族的受试者，当然，如果要进行组间有统计意义的比较，在一组 12 个受试者中其多样性是有限的。最后，典型的单剂量研究要求受试者在给药前大约 12h 到给药后 4h 的时间内禁食，除非研究的目的是考察测定食物对药物吸收的影响。

2.4 分析方法学

任何生物利用度研究中，最重要的就是考虑分析方法的可靠性。除了重现性外，还必须有足够的灵敏度以检测药物浓度较低的生物样品。在单剂量给药后，血浆药物浓

度时常低至毫克每毫升或纳克每毫升的范围。此外，分析方法必须对原形药有专属性，并且能在药物代谢产物和其他血液或尿液成分存在的情况下精确测定药物的浓度。大部分的分析方法都会涉及一些提纯的步骤，如溶媒萃取，以把药物从体液中分离出来。另外，大部分的分析都会用到一些色谱仪，经常用到的是气相色谱或高效液相色谱。任何生物利用度或生物等效研究的关键组成部分就是分析验证，应对分析方法的精确度、精密度、灵敏度、专属性、线性和重现性加以考虑。对于生物样品，药物在储藏期间的稳定性也须加以认真地考虑。

3. 数据的分析解释

生物等效研究通常都是为了证明两个或多个制剂间没有明显的差别，即几个产品是治疗等效且可互换的。一旦收集到生物等效研究的数据，就必须用统计方法对任何观察到的差别进行显著水平的测定。c_{max}和 AUC 的统计比较都是在对数转换后进行。进行对数转换是恰当的，因为：①很多生物学和药物动力学参数都是呈对数正态分布的；②与产品间的比较最相关的是药物产品 c_{max}和 AUC 间的比率，而不是平均值的绝对区别。0.05 水平的单侧显著性检验用的也是经对数转换后的生物等效研究数据。有一个很重要且值得注意的地方是，用 90%的置信区间（CI），而不是 c_{max}和 AUC 的平均值来进行比较以及确保药物产品的生物等效。换句话说，试验制剂的 c_{max}平均值和 AUC 平均值的 90%置信区间，必须各自在参比制剂平均值 80%～125%的范围内。实际上，如果试验制剂的 c_{max}平均值和 AUC 平均值与参比制剂相差超过 10%～15%，则其置信区间就很有可能跌出 80%～125%的范围。典型的、适用于研究方案的方差分析（ANOVA）方法也适用于评价剂型间、受试者间和治疗期间的差别。通常也会计算 T_{max}的平均值，但一般在生物等效测定不用，除非观察到大的差别，这主要由于 T_{max}的值与研究方案和血样采集的时间点相关。

结论

药物剂型间的生物利用度和生物等效测量是一项日常操作。这类研究逐渐增多的原因包括：①非专利药物产业的快速发展；②对剂型在药物吸收速度和程度中的影响的意识的增加；③用于测量体内药物和代谢产物的更灵敏更可靠的分析方法的发展；④对除了用患者进行临床试验来评价制剂体内表现外的其他手段的需要。可以明确的是，生物利用度和生物等效研究已成为政府机构对药物产品批准过程中的常规步骤。这类研究可提供一些关于药物在体内处置和影响其功效的因素的有价值的信息。这些数据对新剂型的开发是有用的，也有助于准备药物产品说明书。最后，生物等效研究已成为比较不同厂家生产的等效制剂的必要组成部分。

参考文献

1. United States Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, http: //www. fda. gov/cder/ regguide. htm/(accessed 12/2/99) .
2. National Archives and Records Administration Code of Federal Regulations, Title 21, Food and Drugs, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Part 320, Bioavailability and Bioequivalence Requirements, http://www. access. gpo. gov/cgi-bin/ cfrassemble. cgi? title=199921 (accessed 12/2/99) .
3. Federal Register, January 7, 1977; Part III, Department of Health, Education and Welfare, U. S. Food and Drug Administration, Washington, DC, 1624－1653.
4. Kidd, R.; Blaisdell, J.; Straughn, A.; Meyer, M. C.; Goldstein, J.; Dalton, J. T. Pharmacokinetics of Phenytoin, Glipizide and Nifedipine in a Homozygous CYP2C9-Leu 359 Individual. Pharmacogenetics 1999, 9 (1), 71－80.
5. Amidon, G. L.; Lnnerhas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability. Pharm. Res. 1995, 12 (3), 413－420.
6. Yeh, K. C.; Kwan, K. C. A Comparison of Numerical Integrating Algorithms by Trapezoidal, Lagrange, and Spline Approximation. J. Pharmacokinet. Biopharm 1978, 6 (1), 79－98.
7. Haughey, D. B.; Lima, J. J. Influence of Concentration dependent Protein Binding on Serum Concentrations and Urinary Excretion of Disopyramide and its Metabolite Following Oral Administration. Biopharm. Drug Dispos. 1983, 4 (2), 103－112.
8. Upton, R. A.; Williams, R. L. The Impact Of Neglecting Nonlinear Plasma-protein Binding on Disopyramide Bioavailability Studies. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1986, 14 (4), 365－379.
9. Tozer, T. N.; Tang-Liu, D. D. S. Linear versus Nonlinear Kinetics. Topics in Pharmaceutical Sciences; Breimer, D. D., Speiser, P., Eds.; Elsevier: New York, 1981; 3－17.
10. Varley, A. B. The Generic Inequivalence Of Drugs. J. Am. Med. Assoc. 1968, 206 (8), 1745－1748.
11. Olson, S. C.; Ayres, J. W.; Antal, E. J.; Albert, K. S. Effect of Food and Tablet Age on Relative Bioavailability and Pharmacodynamics of Two Tolbutamide Products. J. Pharm. Sci. 1985, 74 (7), 735－740.
12. Committee of Revision. Monograph 701, Disintegration; Monograph 711, Dissolution. United States Pharmacopeia XXIV/National Formulary XIX; United States

Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1941—1943.

13. Welling, P. G.; Tse, F. L. S.; Dighe, S. V. Pharmaceutical Bioequivalence. Drugs and the Pharmaceutical Sciences; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991; 48, 1—467.

14. Abdou, H. M. Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence; Mack Publishing: Easton, PA, 1989; 1—554.

（谢家树 译）

药物的生物转化

L. F. Chasseaud
D. R. Hawkins
Huntingdon Life Sciences, Huntingdon, United Kingdom

引言

药物的生物转化可定义为药物在体内通过化学反应转化成为其他化合物。然而，这一定义不包括在生物介质中药物因化学不稳定性而引起的降解。这些转化通常由体内器官、组织或体液中的酶介导，但偶尔也发生非酶反应或酶和非酶的复合反应。本章生物转化的同义词是代谢，实际上药物的生物转化和药物代谢表述同一件事情，通常可以相互替用，但后者更常用一些。

与那些已经有的学科相比，药物生物转化的研究还是一门较新的学科：最早的科学论文出现在约 100 年前。许多人认为它是药理学的一个分支，但将其归为生物化学更准确一些。对药物生物转化的了解通常有助于理解药理学、毒理学和临床现象，药物生物转化的论文可以在专门杂志上或生物化学和化学分析杂志上找到。在 30 年前，药物生物转化的研究者们已经创办了他们自己的杂志并出版了综述丛书。

药物生物转化研究的先驱是已故的 R. T. Williams，40 年前他写了该学科的第一部重要著作《解毒机制》，至今仍是经典著作。其后药物生物转化的文章一直稳步增长，直到近年几乎呈指数级增长。正由于认识到药物生物转化知识对于更好地理解某些药理学、毒理学和临床发现的重要性，加之政府对新的化学药物安全性评价指南也要求进行药物化学转化研究，另外，所必需的科研仪器设备也有了重要进步，同时由于同位素标记化合物的商业化，都大大促进了药物生物转化的研究，并取得了极大成绩。

由于本章主要论述概念，所以有意地避免引用特定的科学文献。读者可从所附的参考文献中更详细地了解专题著作或早期科学文献。

药物生物转化的必要性

人的一生中要摄取多种多样的物质供给身体，其中有一些是人体健康所必需的，并提供中间代谢过程所需的原料。然而，有些人体不需要的物质也要被消化、吸入或吸收，这些物质称为外源性化合物、外来化合物或异生物素，它们既可以自然产生也可以是人造的。这些化合物的理化性质（如脂溶性）赋予它们易于被吸收到体内，但不利于成为排除物，它们在体内积累最终会产生有害的影响。与此相反，那些在生物进化过程中的代谢过程借生物转化来处理的外来物质，通过转化可成为更具极性的衍生物（如水溶性）而能容易地排出体外。药物就是这类外来化合物，人体为了有效地排除就必须进行生物转化。许多药物的作用被生物转化减弱，但是也有些药物生物转化后所产生的代谢物，其母药的药理作用却显示了另一些性质。有机多硝酸酯类血管扩张剂如二硝酸异山梨醇酯，只要代谢物含硝基（尽管作用较弱），就能发挥母药的抗心绞痛的功能。苯并二氮䓬（如地西泮）的代谢物，也具有抗焦虑作用，而它的另一代谢产物替马西泮则用作催眠药。相信还有另一些的药物（前药）通过生物转化再次产生药理活性。长效抗精神病药就是这种类型，氟哌啶醇癸酸酯在体内依靠酯水解反应释放出活性药物氟哌啶醇。

生物转化途径

生物转化途径分为第一相和第二相两步反应。前者包括氧化、还原和水解，反应后在药物分子中形成新的功能团。然后形成的大多数代谢物能参与下一相的生物转化过程，在第二相中一些极性亲水部分如葡糖醛酸、硫酸酯或氨基酸与第一相反应产生的功能团共价结合。通常这些过程所生成的代谢物水溶性逐渐地增加，变得易于从体内吸收。生物转化一般是由肝脏和其他组织中存在的酶催化。一些研究者认为由肠道菌丛生物转化的药物代谢物有胆汁排泄称为第三相。

许多药物经受一系列生物转化，连续不断的一相和二相反应组合成一个复杂的代谢物数列（图 1）。含有适当功能团的药物能直接进入二相反应而不需要一相生物转化，

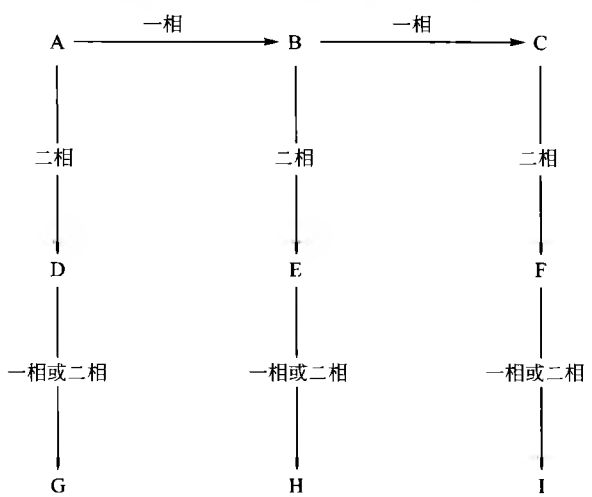


图 1　药物 A 经一相和二相反应生成几种代谢物（B～I）

如羟基乙酸和羟基丙酸抗炎药物（消炎痛和布洛芬），其羧酸基团能和葡糖醛酸、氨基酸（如甘氨酸）结合。

某些情况下，一相代谢物由于其具不稳定性或化学反应性高而不能被检测到，后者通常是亲电子的物质，称为反应中间体。中间体屡次在酶促或非酶促反应下与亲核物质结合产生二相代谢物。这种类型的一个常见例子是芳香环的氧化生物转化，结果是芳烃氧化物（环氧化物）与三肽谷胱甘肽结合。从这个途径衍生出的代谢物通常表明前体活性亲电子—相代谢物的形成，但它的存在仍然只是推断。

某些生物转化过程是可逆的，无活性代谢物能够变回到活性药物，从而延迟药物从体内排出，这可能是因为延长了靶组织暴露在药物下的时间。这种过程有助于仲醇/酮、硫化物/硫氧化物以及叔胺/氮氧化物的氧化还原反应，所有这些过程都是可逆的。

指定药物的生物转化途径取决于许多因素，包括亲脂性、分子大小和形状、空间排列和电子特性、立体化学以及酸碱性。这些因素之间的相互关系还不清楚，除了密切相关化合物的有限基团之间的关系外，目前无法精确地预报生物转化。这主要是由于可利用的背景信息深度有限以及对化合物与生物转化有关酶的活性位点之间作用的影响因素了解得不充分。但生物转化过程的认识在不断地增长，新的途径还在发现。

氧化反应

氧化反应是最常见的生物转化过程，很少有药物经历一相反应而不包含氧化反应。氧化反应经常发生在饱和（sp^3）或不饱和（sp^2）碳位并对不同价位的氮和硫（不管是处于无环还是环状结构）起反应。

氧化反应通过引入亲水基团形成代谢物，可有助于降低亲脂性，使之更容易排出。另外，这些功能性代谢物多数也是二相结合反应的底物。

许多不同化学类别药物的非特异性氧化是通过包括细胞色素 P450 作为终端氧化酶在内的一个混合功能氧化酶多酶系统来催化的。反应定位于细胞的内质网中。细胞色素 P450 是一类多基团族血红素蛋白，能通过它们的色谱、免疫特性及底物特异性来区分它们。细胞色素 P450 催化的机制还不明确，一般认可的机制如图 2 所示。细胞色素 P450 是对药物生物转化最通用的和广泛研究的酶系统。

底物与氧化的细胞色素 P450 结合以后，被一种黄素蛋白还原酶催化并从 NADPH 转移一个电子。氧分子与被还原的酶—底物复合物结合形成三元复合物，接受可能通过细胞色素 b5 从 NADH 而来的第二个电子。一个氧原子从被激活的氧分子转移到底物形成氧化的产物，同时也产生水和被氧化的细胞色素 P450。

另外，加单氧酶不依赖于细胞色素 P450，如位于内质网中的黄素蛋白，它参与叔胺氧化得到氮氧化物，以及各种硫化物的氧化。还有其他氧化酶包括醇脱氢酶、醛脱氢酶和单胺氧化酶则位于线粒体或细胞溶质中。

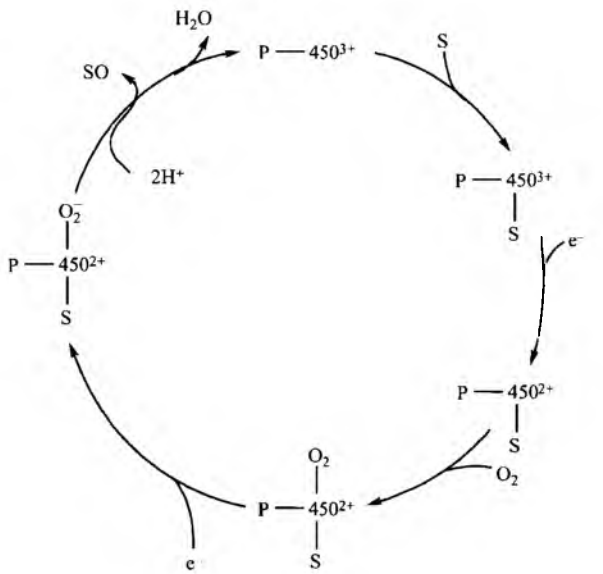


图 2 细胞色素 P450 催化作用的假设机制。净反应为：
底物＋2e＋2H⁺＋O₂→底物—O＋H₂O

1. 脂族碳

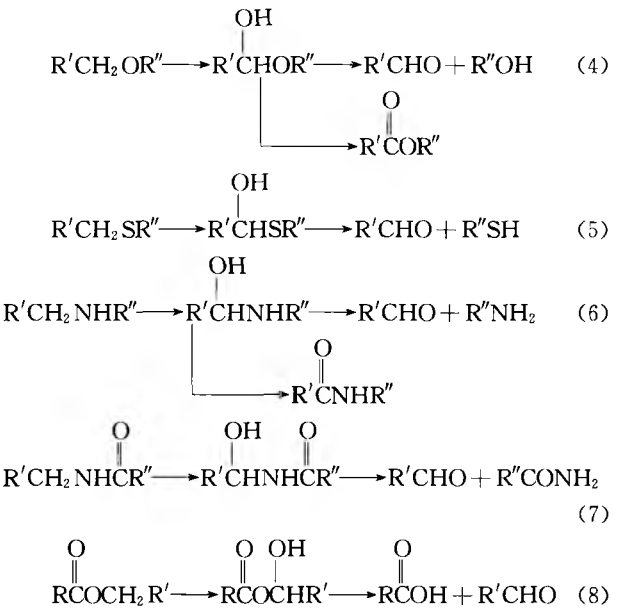
伯碳［式（1）］、仲碳［式（2）］或叔碳［式（3）］的氧化都产生相应的醇。伯醇进一步氧化产生醛，通常很快转换成羧酸。仲醇氧化成酮，一般会导致代谢物亲水性较差并且很少见。

$$RCH_3 \longrightarrow RCH_2OH \longrightarrow RCHO \longrightarrow RCO_2H \quad (1)$$

$$R'CH_2R'' \longrightarrow R'\overset{OH}{\overset{|}{C}}HR'' \longrightarrow R'\overset{O}{\overset{\|}{C}}R'' \quad (2)$$

$$R''\text{—}\overset{R'}{\overset{|}{C}}\text{H} \longrightarrow R''\text{—}\overset{R'}{\overset{|}{C}}\text{—OH} \quad (3)$$
（R'''）

从醚［式（4）］、硫醚［式（5）］、胺［式（6）］和酰胺［式（7）］脱去羟基或芳羟基形成的代谢物为常见的生物转化途径（R′，R″＝氢、羟基或芳基）。这些过程包括相邻杂原子的碳的氧化。中间体一般是不稳定的，并易于分解成相应的醇、硫醇、胺或酰胺和醛。从酰胺形成的中间体［式（7）］更稳定，并且能作为排出代谢物被检测到。如果仲碳与杂原子相临，分子的这部分如酮一样被脱去。杂原子也可以在一个环状结构上（如吗啉和哌嗪）。胺采用的称为 *N*-脱烷基化或去脱氨基化的两种过程基本上是一样的。一般来讲，采用哪一个名词取决于对碳氮键的哪方面更感兴趣，也即焦点是产生碳酰化合物还是胺。对伯胺而言，这个过程取名为脱氨基化是因为对产生氨不感兴趣。对胺而言，中间水解产物可进一步氧化成羰基，从而形成酰胺［式（6）］。醚的切断也可通过这种类型的氧化过程来实现［式（8）］。与水解相比唯一不同的是不形成醇分子的这部分作为醛释放出来。



(4)

(5)

(6)

(7)

(8)

2. 芳香族和不饱和碳氢化合物

不饱和碳氢化合物的双键是通过环氧化作用被氧化的，得到的环氧化物一般是反应性底物，通过环氧化物水解酶的作用被进一步生物转化成醇或乙二醇。

芳香族化合物羟基化成苯酚很久以来被认为是一个重要的去毒过程，特别如苯酚很容易和葡糖醛酸或硫酸结合形成易于排出的高水溶性代谢物。这个氧化过程包括芳香族双键经环氧化形成芳烃氧化中间体。这些环氧化物一般不稳定，并被认为是反应性中间体。芳香族羟基化名义上的主要产物苯酚不需要形成环氧化物中间体。环氧化物能通过自发的异构化成苯酚、酶水化作用成二氢二醇并能与谷胱甘肽结合形成几种不同类型的代谢物（图 3）。代谢物的形式取决于环氧化物的内在反应性。环氧化物也能和细胞大分子如 DNA、RNA 和蛋白质中多种生物亲核中心反应，由此可能会产生毒性反应。其他芳香族环系统通过假设的环氧化物中间体被羟基化，最有名的就是呋喃。一个芳环上氧化的位点取决于参与的细胞色素 P450 的种类和与底物结构相关的电子和立体等因素。对取代的芳香族化合物而言每个环氧化物可有两种异构化苯酚。因此，甲琥胺在动物和人体内既构成一个二氢二醇又构成两种异构化苯酚。

二氢二醇经二氢二醇脱氢酶的作用可被还原成邻苯二酚。邻苯二酚也可由两步连续羟化形成。邻苯二酚能被邻苯二酚 O-甲基转移酶单甲基化，终端代谢物常常是由这一途径形成的。

一个很新奇的生物转化过程可在部分芳族羟化过程中发生，这被称为 NIH 转移，即在羟化位置上的取代基如溴、氯和氟转移到邻近位置。由于环状羟化代谢物的严格鉴定还欠缺，有关例子还很少。

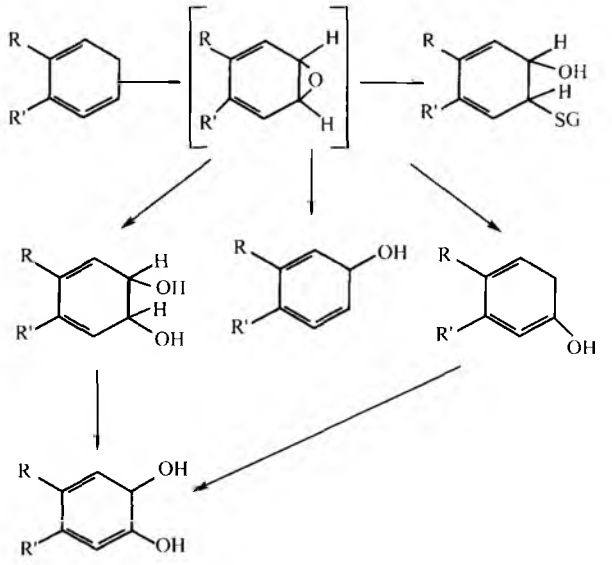
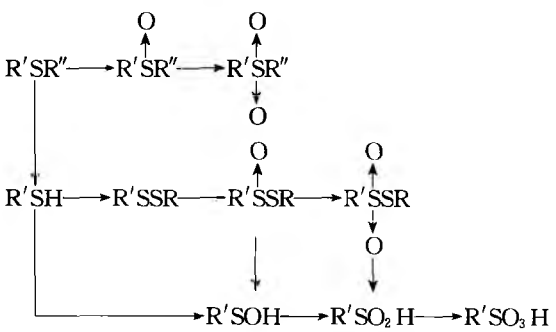


图 3　芳香族的碳氢化合物经生物转化到环氧化物再进行其他各种反应

3. 硫

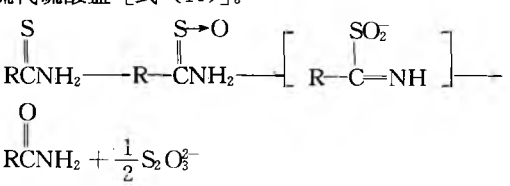
硫醚中二价硫原子的氧化是一种含硫化合物普遍的生物转化过程［式（9）］。氧化分两步进行，第一步先生成亚砜，接着再到砜。亚砜极性增强，通常可在排出代谢物中被发现，但亚砜也能被还原成硫化物。亚砜的形成产生一个不对称中心从而能发生立体特异性氧化。砜是终端代谢物，并没有证据认为它们发生了还原反应。

硫醚能裂解为硫醇，进而转化成稳定的氧化物，如亚磺酸和磺酸，氧化物水溶性很高，易于排出体外。硫醇可能首先被氧化成二硫化合物，在裂解成亚磺酸和磺酸前再进一步氧化成硫［式（9）］。



(9)

化合物如硫代酰胺中的硫代羰基通过对硫的氧化攻击而被生物转化。首先是硫代酰胺的磺化氧化，然后进一步 S-氧化产生一个不稳定的中间体，中间体很易被水解成酰胺和硫代硫酸盐［式（10）］。

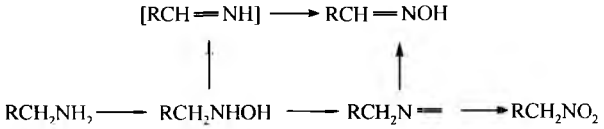


(10)

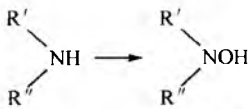
Y

4. 氮

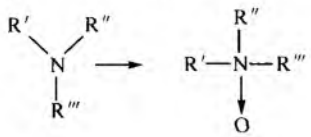
氮氧化作用可有许多方式，从伯胺和仲胺产生羟胺［式（11）、式（12）］，从酰胺化物产生异羟肟酸，或从叔胺产生氮氧化物［式（13）］。参与的酶系统可以是细胞色素 P450 或是黄素蛋白氧化酶。羟胺经过亚硝基中间体可进一步氧化成硝基化合物［式（11）］。通过亚硝基中间体的重排或亚胺的氮氧化作用能形成肟［式（11）］。氮氧化物既可以从叔芳基胺和烷基胺也可以从杂环芳族如嘧啶环的氮形成。



(11)



(12)



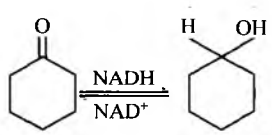
(13)

还原作用

还原的生物转化过程没有氧化生物转化过程普遍，但许多功能团对还原作用敏感。有一些可通过非酶的生物还原剂来进行。相当程度的过程是可逆的氧化还原酶系统的一部分，并指出其平衡状态取决于氧化和还原产物的性质。厌氧条件有利于还原过程，但肝、肾脏、肺等组织中还原酶的作用除外，肠胃道厌氧环境中的微生物产生的还原代谢物接着被吸收。还原作用经常可使代谢物与前体相比其亲脂性相当或稍强一些，它是代谢物在排出体外前发生的仅有的一种罕见过程。

1. 碳

很多的酮可作为乙醇脱氢酶的底物。它们包括脂环族和芳基烷基酮［式（14）］。



(14)

酮与醛不同，它基本上是没有反应性的，当平衡主要移向仲醇时它除被还原之外，很容易被结合，借此进一步促进酮的还原［式（14）］。酮还原导致形成一个不对称碳，尽管酶系统的底物特异性较低，而主体特异性却很高。

乙醇脱氢酶不但催化仲醇到乙醛的氧化而且也催化逆反应。然而，由于醛氧化到酸很容易，因此反应平衡式趋向右方移动［式（15）］。

$$RCH_2OH + NAD^+ \rightleftharpoons RCHO + NADH + H^+ \quad (15)$$

醛的代谢一定出现相应的酸作为一种代谢物而被排出，虽然有些例子中酸和醇同时形成。像抗组胺药氯苯茚二酮脱氨而形成的醛，它被代谢为相应的酸和醇的混合物。

碳-碳双键的还原可以在胃肠道中观察到。

2. 氮

在还原生物转化中最常见的含氮化合物是含硝基、偶氮基和氮氧化物等功能团的化合物。相关的酶一般位于肝脏的内质网或细胞溶质里或在肠道微生物群落中。硝基化合物完全还原到伯胺包括了一个 6 电子的转移并经过亚硝基和羟胺中间体［式（16）］。

$$R{-}NO_2 \longrightarrow R{-}NO \longrightarrow R{-}NHOH \longrightarrow R{-}NH_2 \quad (16)$$

含 1 个电子转移的附加自由基中间体已经被提出，如硝基阴离子基和羟硝基。苯二氮䓬类药物硝西泮被肝脏微粒体还原成相应的胺。然而，有 NADPH 细胞色素 c 还原酶参与的还原反应可能只形成羟胺。硝基还原酶活性的高水平与肠中厌氧微生物有关，它能使芳香族硝基化物还原成相应的胺。当硝基接近杂环上的杂原子时，还原成亚硝基或羟胺中间体常常导致开环。在异羟肟酸上的羟胺功能团也能被还原成相应的酰胺。

脂肪族和芳香族叔胺氮氧化物能被还原成相应的胺。还原既能发生在肝脏细胞溶质、内质网或线粒体、肝脏以外组织如肾脏、肺，又能在肠道菌丛中进行。

偶氮基还原酶的活性同时存在于肝脏的内质网和细胞溶质中。这样一般认为先产生联亚氨基中间体再被切成两个伯胺。最有名的例子是偶氮基染料偶氮磺胺被切开形成磺胺这个有抗菌活性的化合物，这个反应包含了 4 个电子的转移。

某些卤代碳氢化合物如三氟溴氯乙烷进行脱卤还原反应。

3. 硫

绝大多数带有硫而不是硫醇的功能团通过氧化过程先被代谢，而亚砜能被还原成硫化合物。消炎药物舒林酸被还原成硫化物，这是一种活性代谢物，它能被氧化回亚砜。二硫化合物能被还原成相应的硫化物。

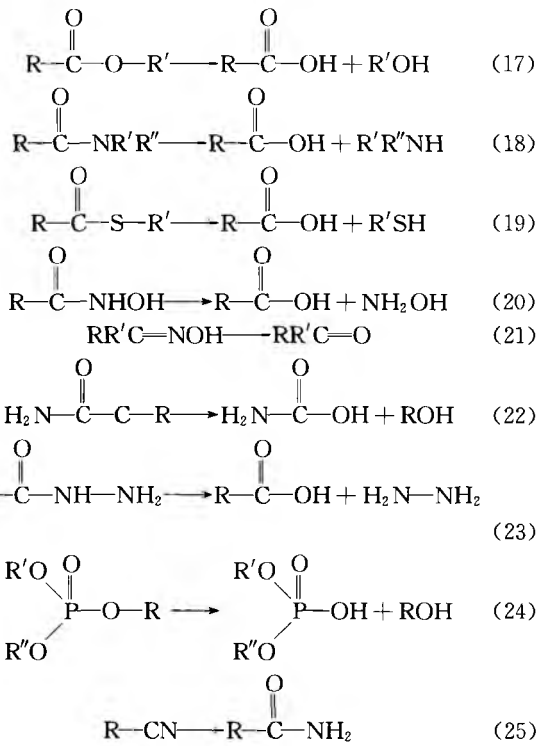
水解反应

另一些重要的一相药物生物转化反应包含水解过程。水解的基团包括酯［式（17）］、酰胺［式（18）］、硫酯［式（19）］、异羟肟酸［式（20）］、肟［式（21）］、氨基甲酸盐［式（22）］、肼［式（23）］、有机磷酸盐［式（24）］、腈［式（25）］。

水解反应绝大多数由羧酸酯酶催化，该酶按其相关的底物也有其他名称，如酰胺酶［式（18）］或磷酸酶［式（24）］。

随着作为潜在药物的多肽合成数量的不断增加，应该提及水解切断两个相邻氨基酸酰胺键的肽酶。

羧酸酯酶是一类不易分类的且在某种程度非特异性的酶。它们起内源性作用，如转运。B酯酶（丝氨酸水解酶）存在于绝大多数的哺乳动物组织和体液如血浆中，在酶的活性部位酯化成一个丝氨酸残基，对有机磷酸盐如磷酸二乙基对硝基苯基酯的抑制作用敏感。其他的酯酶有A酯酶（芳基酯酶）和C酯酶（乙酰酯酶），酯酶在肝脏的内质网中活性特别高。有些酯酶活性呈现组织和物种特异性。后者导致酶在体内的半衰期有显著的物种差异，如小鼠的半衰期只有几分钟而狗的有数小时。这两种动物常用于药物评价，当评价含酯药物时，将它们和人类做比较就变得极为重要。羧酸酯酶的特异性取决于取代基（R、R′、R″）的性质而不是接合在羧基上的杂原子（O、S、N）的种类。通常酯与相应的酰胺相比水解得更快，这个差别能应用于药物设计，含酯药物因水解而缩短的作用持续时间可以通过用酰胺键代替酯键的办法得以延长。酯或酰胺键的水解常与药物的去毒作用有关，因为这样的药物水溶性更大因而水解产物更易排出体外。但也有例外，如乙酰水杨酸水解产生的水杨酸仍具有药理学活性，并且比母药具有更长的半衰期。



(17)

(18)

(19)

(20)

(21)

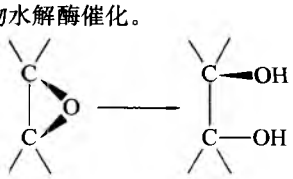
(22)

(23)

(24)

(25)

环氧化物的水解作用［式（26）］可视为水解的一种特殊形式，水加入环氧化物而不形成一个以上的产物。这个反应被环氧化物水解酶催化。



(26)

环氧化物因为三元酯环中固有的张力以及环上碳原子亲电性通常具有很强的化学反应性。通过环氧化物水解酶（环氧化物水化酶和水合酶）的作用，它们和水起立体选择性反应，主要生成反式邻二醇［式（26）］，这是因为内阻最小的碳原子被OH^-从分子的对面向环氧化物亲核攻击。虽然二醇比母体环氧化物反应性低，但它可以作为环氧化反应的底物，特别是大的疏水分子如多环芳香烃，它可导致形成毒性很高的耐环氧化物水解酶的二氢二醇环氧化物。

环氧化物水解酶活性存在于大多数哺乳动物组织中，而在肝脏的内质网和细胞溶质里活性很高。环氧化物水解酶活性个体间差异相当大，它能影响个体对某些环氧化物毒性作用的敏感性。这种差异源于几种环氧化物水解酶的存在。

有些环氧化物是耐环氧化物水解酶的，如卡马西平代谢产生的环氧化物在生物转化下保存下来并通过尿排到体外。

结合反应

二相药物生物转化含许多功能团与内源化合物的结合反应（表1），得到的产物通常比前体更具有水溶性，从而更易于通过尿或胆汁排出体外。但有些脂肪酸结合物比母体化合物更具脂溶性。四氢大麻酚和依托非那酯的醇基与棕榈酸及其他脂肪酸的酯结合物已在粪便和组织中作为代谢物被鉴别到。虽然在排出物中这些代谢物的量很少，但其高的脂溶性可能使它们在组织里更重要。

结合反应被基团转移酶催化。

表1 常见的结合反应

反应	酶系统	参与的官能团
葡糖醛酸化	葡糖醛酸基转移酶	—OH
		—COOH
		$—NH_2$
		$—SO_2NH_2$
		—NHOH
		—SH
硫酸化	磺基转移酶	—OH
		$—NH_2$
		$—SO_2NH_2$
		—NHOH
谷胱甘肽结合	谷胱甘肽 *S*-转移酶	亲电中心
乙酰化	乙酰转移酶	—OH
		$—NH_2$
		$—SO_2NH_2$
		—NHOH
氨基酸结合	酰基转移酶	—COOH
甲基化	甲基转移酶	—OH
		$—NH_2$
		—SH

Y

1. 葡糖醛酸化反应

葡糖醛酸化在定量上是最重要的结合反应。葡糖醛酸化反应能在大多数体内组织中发生，可能是因为内源底物的需要，内源底物是糖原合成过程产生的一种中间代谢产物尿苷二磷酸 D-葡糖醛酸（UDP-GA）（图 4）。那么这个底物不大可能像其他结合反应的底物那样耗尽。葡糖醛酸化由一组葡糖醛酸基转移酶所催化，这类酶主要位于内质网上并且非常紧密地与之相连。该酶一个不同寻常的特点是其明显的潜伏状态，在体外最高酶活性只有在用了如表面活性剂这样的物质处理后破坏了膜结构才可表达。

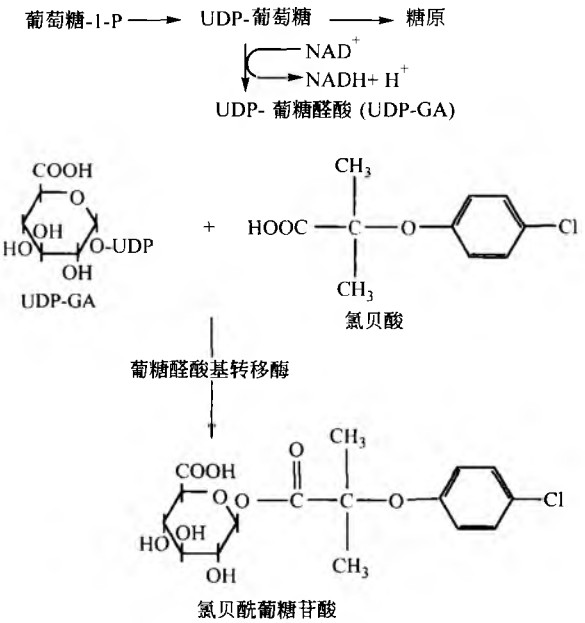


图 4 UDP-GA 的形成及与氯贝酸的结合反应。结合反应过程发生反转，α-D-葡糖醛酸成为 β-D-葡糖醛酸；在偏碱性 pH 下，葡糖醛酸可以经受分子内重排，构成对 β-葡糖醛酸酶水解的抗性

醇和苯酚能发生葡糖醛酸化反应形成葡糖苷酸酯、羧酸反应后形成葡萄糖苷酸酯、胺类、磺胺类、羟胺类、硫醇类、酰胺类、氨基甲酸酯，甚至某些含亲核碳原子的化合物如苯丁唑酮等也能发生葡糖醛酸化反应。叔胺的葡糖醛酸化反应产生含一个四价氮的结合物。除了外源化合物，内源性底物如类固醇类、苯磷二酚类、胆红素和甲状腺素也能发生葡糖醛酸化反应。

葡糖醛酸化反应虽不普遍，但与葡萄糖、核糖或木糖等其他糖类也能发生结合反应，如与 UDP 葡萄糖结合后形成葡糖苷。

2. 磺化反应

磺化反应是一种重要的结合反应，如同葡糖醛酸化反应一样，需要一个“高能的”或“被激活的”内源性底物，即 3′-磷酸腺苷-5′-磷酸-硫酸盐（图 5）。然而，该底物在细胞内的浓度较低，它比葡糖醛酸化中的底物更易耗尽。因此磺化反应是一个容易饱和的生物转化过程。磺化反应和葡糖醛酸化在竞争方面，底物低浓度下前者占优势，而高浓度时后者居支配地位。依底物而言磺化可在体内大多数组织中发生，并由位于细胞溶质中的一组磺基转移酶所催化。

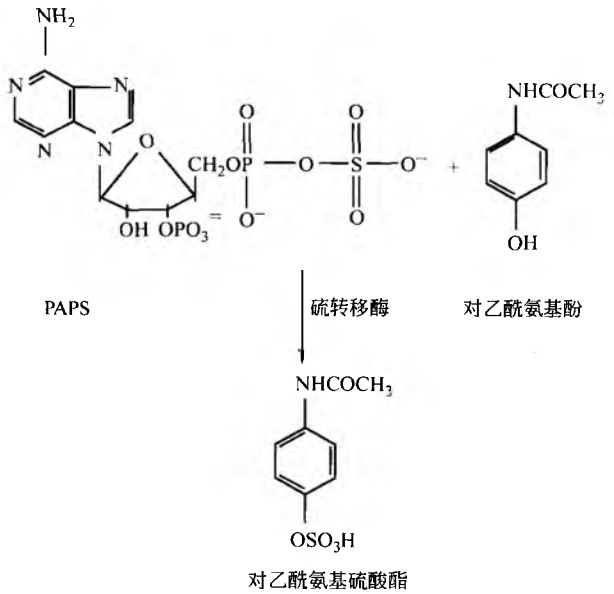


图 5 3′-磷酸腺苷-5′-磷酸-硫酸盐（PAPS）的形成及与对乙酰氨基酚的结合反应。严格地说，该过程为一种磺化反应，$-SO_3^-$ 基被转移

醇类、苯酚类、羟胺类和胺类能被磺化，同样内源性底物如类固醇、多糖和生物胺也能被磺化。磺化反应能导致代谢物比其前体更具毒性（图 6）。

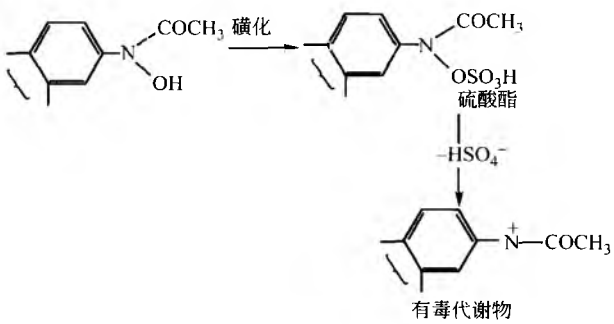


图 6 经磺化中间过程后形成有毒代谢物

3. 谷胱甘肽结合反应

拥有一个足够的亲电中心的化合物能和内源性亲核物三肽和谷胱甘肽（GSH）稳定地结合。虽然该反应在非酶下也能继续，但通常是由谷胱甘肽 S-转移酶催化，它是一组非特异性酶与底物特性部分一致，它也能适用于结合蛋白。

亲电中心可能已经存在于化合物中，或者它可能是一

相生物转化的结果如环氧化物。与 GSH 的结合反应可以概括地归为置换反应［取代；式（27）］或加成反应［式（28）；R′＝吸电子基团］。特别是后者将产生非对称中心，但直到最近对该反应的立体化学和立体特异性才开始感兴趣。

$$R—X+GSH \longrightarrow R—SG+H^+ +X^- \qquad (27)$$

$$R—CH=CH—R'+GSH \longrightarrow R—CHSG—CH_2—R' \qquad (28)$$

虽然某些底物的化学性质能促进有毒结合物的形成［例如，式（29）；X＝卤素］，但 GSH 在体内能发挥重要的保护功能，与 GSH 结合一般导致解毒作用。

$$X—CH_2CH_2X+GSH \longrightarrow GS—CH_2CH_2—X \longrightarrow GS^+\langle \begin{matrix} CH_2 \\ | \\ CH_2 \end{matrix} \qquad (29)$$

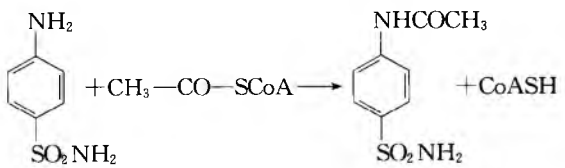
尽管某些异构酶可能呈现组织物种的特异性，但是谷胱甘肽 *S*-转移酶似乎存在于所有种类的脊椎动物及其组织中。在某些组织如肝脏中酶的浓度相对地高一些。谷胱甘肽 *S*-转移酶主要位于细胞溶质中，但也可能存在于其他细胞结构中，在内质网中它被巯基试剂激活。虽然 GSH 在组织中相对较多（例如，在肝脏中大约 5mmol/L），但某些大剂量药物会使之严重地消耗。以乙酰氨酚为例，当它耗尽时通过活性中间体（一种醌亚胺）有可能产生肝中毒，在临床剂量水平上若该中间体能与 GSH 起结合反应则会解毒。GSH 结合反应是一个可饱和的途径。

GSH 结合物在胆汁中排出，在尿中几乎没有。通过分解代谢移去 GSH 结合物的谷氨酰基和甘氨酸部分而产生半胱氨酸结合物，半胱氨酸结合物可以被 *N*-乙酰化成 *N*-乙酰半胱氨酸结合物（巯基尿酸）或亚砜这样的代谢物后在尿或胆汁中排出。这些结合物可以在碳硫裂解酶的作用下甲基化得到硫醇，接着硫被氧化得到亚砜和砜［式（30）］。

$$R—\text{半胱氨酸} \xrightarrow{\text{裂解酶}} R—SH \longrightarrow R—SCH_3 \longrightarrow R—SCH_3 \longrightarrow R—\overset{O}{\overset{\|}{S}}CH_3 \qquad (30)$$

4. 乙酰化反应

氨基的乙酰化反应是一种利用乙酰化辅酶 A 的很普通的反应，它由细胞溶质的 *N*-乙酰转移酶催化。就磺胺这样的底物而言，甚至二乙酰化反应也可能发生［式（31）］。乙酰化可在肝脏和其他许多组织中进行。



(31)

乙酰化的产物与前体相比或多或少地有些毒性。对于某些磺胺类药物，其乙酰化磺胺因水溶性较小而在肾脏沉淀从而引起肾毒性。

乙酰化反应在人群中呈现众所周知的药物遗传学异常，这种异常有双形态（快型或慢型）甚至有时是三种形态的。这解释了为什么在或快或慢的乙酰化状态下某些药物具有更强的毒性，这取决于是母体药物还是乙酰化衍生物更具毒性。

向含氨基的受体的转酰基作用已有报道，它也是一种酶催化反应。

5. 氨基酸结合反应

另一种乙酰化反应为含羧基的药物和氨基酸的结合。这个过程通过一个偶合的系统而发生，通过酰基辅酶 A 合成酶催化羧酸的高能中间体，接着在羧基转移酶的催化下将羧基转移到氨基酸上［式（32）］。在哺乳动物中，可利用的氨基酸有甘氨酸、牛磺酸、谷氨酰胺和肉毒碱。这种结合反应广泛地发生于肝线粒体中，结合反应系必须包括酶系统，有关酶系统的性质到目前还不太清楚。

$$R—COOH+ATP \longrightarrow R—CO—AMP+H_2O+PPi$$

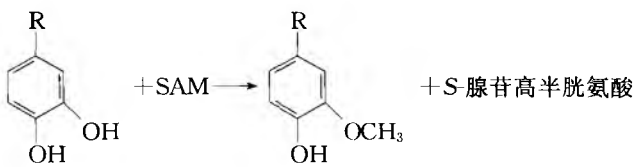
$$R—CO—AMP+CoASH \longrightarrow R—CO—SCoA+AMP$$

$$R—CO—SCoA+H_2N—R'—COOH \longrightarrow R—CO—NH—R'—COOH+CoASH \qquad (32)$$

氨基酸结合反应是补充葡糖醛酸化的。一些羧酸同时进行这两种反应，而有些主要经历一种反应。

6. 甲基化反应

虽然甲基化反应主要与内源性底物有关，但是一些药物也被肝、肺和其他组织中的非特异性甲基转移酶甲基化［式（33）］。这些酶主要位于细胞溶质中，但它们也可以是结合在膜上。主要的甲基供体是由 ATP 和 *L*-蛋氨酸形成的 *S*-腺苷甲硫氨酸（SAM）。



(33)

在间位或对位上 *O*-甲基化的相对重要性取决于替换基 R 的性质。甲基化通常导致一个水溶性较小的产物形成，但通常把它看成是一个去毒过程。通常是 *S*-甲基化，但 *N*-甲基化和某些金属离子（如汞）的甲基化也会发生。

立体选择性和立体特异性生物转化

许多药物含有一个或多个非对称中心，因此组成一个对映异构体和非对映异构体的混合物。每个非对称中心有一对呈镜像关系的对映异构体。药物发挥药理活性并进行生物转化时需要和特异受体或酶发生作用，根据作用部位

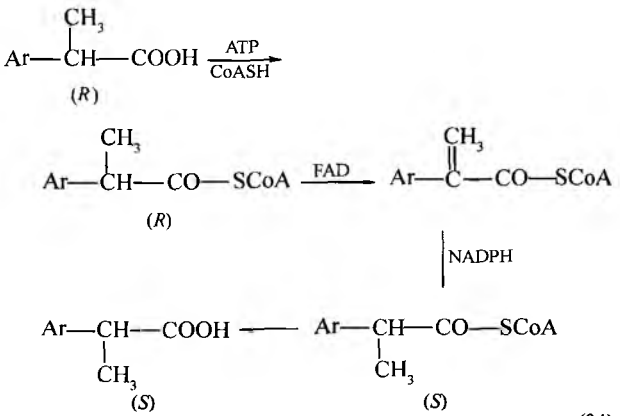
Y

的立体构型，这种作用有高度的立体选择性。因此，一对对映异构体可能在生物活性和生物转化速率上有差异。后者的差异可导致形成立体选择药代动力学，从而也影响到生物活性。由此目前趋向开发单个对映异构体作为新药以达最佳的治疗率（指标）。事实上，现存的外消旋药物的单对映异构体——布洛芬和布吡卡因已作为新药开发出来。现在外消旋药物的开发需要对个别的对映体的药代动力学和生物转化进行详细的临床研究。

心血管药物普萘洛尔是一种外消旋体（即两个对映异构体的等量混合物），而大部分治疗活性由（－）-异构体调整。在狗体内主要的生物转化途径是葡糖醛化，（－）-普萘洛尔与葡糖醛酸结合物在尿液中排出的量大约比其（＋）-异构体约高 4 倍，因而后者的血浆浓度比前者高。环的水解是另一个重要途径，人体中这个过程优先选择（＋）-异构体，而导致活性（－）-异构体的血浆浓度较高。

有些生物转化将一个非对称中心引入药物中，并且常引起立体特异性。最普遍的例子是仲碳的水解和酮还原到仲醇。布洛芬异丁基侧链的 ω 和 $\omega-1$ 同时进行氧化，得到的羧酸代谢物在分子中引入第二个非对称中心。两个布洛芬对映异构体表明经受了立体特异性氧化，得到的代谢物在新的非对称中心有同样的构型代谢物。

立体化学转化是立体特异性生物转化的另一个方面。含有一个非对称中心的 2-芳基丙酸代表非甾体消炎药较重要的一类。这类药生物转化值得注意的方面是一种对映体转化到另一种。虽然这类药物多数使用的是消旋混合物，但通常只有一种有生物活性。无活性的（*R*）异构体布洛芬在体内转化为有活性的（*S*）-异构体。一个可能的机制是脱水后形成 α-亚甲基中间体；这一过程是立体特异性的，并有黄素相关脱氢酶（FAD）参与［式（34）］。



(34)

影响药物生物转化的因素

本章前面几节已阐述了药物可以通过多种反应进行生物转化，而且一般是由酶催化的。这些反应的速率和它们相应的重要性可能由若干潜在的相互作用因素来调节，这些因素概略可分为生理性的或环境性的。大多数影响因素已通过实验室动物进行研究，通常包括在高剂量水平和超越常规地系统暴露下进行实验研究。对于人而言，单因素可能看不到明显的作用，但是几个因素的相互影响能对药物生物转化起一部分作用，从而影响药物作用。

1. 生理因素

1.1 年龄

与药物生物转化相关的酶的活性一般在胚胎中相对较低，出生后迅速增长至成人水平，最后到老年期下降。然而，各种各样酶的进化曲线可能取决于物种和酶系统。老年期药物生物转化能力的下降可能有重要的临床意义，因为上了年纪的人会增多，反之多数新药的药代动力学及生物转化方面的研究首先限定在年轻的和健康的受验者中进行。类似地，在儿科学领域对幼儿的药物生物转化能力研究则要求仔细选择药物剂量方案。

1.2 疾病

在现代药物开发中，掌握某些疾病状态下生物转化和药代动力学的知识是必不可少的。特别是肝和肾的疾病状态，因为药物从体内排除，肝、肾起着关键作用。这些器官被疾病损伤可导致药代动力学改变和药物及代谢物在体内积累。心血管疾病也很重要，因为能改变血液流动从而影响药物传送到排泄器官。

1.3 激素

某些激素的缺失或过量能影响参与药物生物转化反应中的酶的活性。除性激素以外，肾上腺、胰腺、垂体和甲状腺在某些酶活性的调节中也发挥作用。某些激素病态如糖尿病和甲状腺机能亢进等，也对药物生物转化有重要影响。在怀孕期间，药物生物转化也能发生改变，这方面还需要进一步地研究。

1.4 药物遗传学

药物生物转化在个体间遗传因素差异是很大的，但这种差异会受到其他一些因素调节。特定药物生物转化主要相关的酶由于基因遗传缺陷，使某些药物生物转化的独特能力大大减少。虽然酶系统如细胞色素 P450（CYP）有较宽的和交错的底物特异性，单独一种酶由于有较高的酶底物亲和性，在特定药物的生物转化中可以起支配作用。这种酶的缺失或在药物治疗时被抑制，能导致药理作用过强或毒理作用。例如，大约 10% 的高加索人缺失 CYP2D6，相反在日本人中有这种缺失的还不到 1%，而日本人主要缺失的 CYP 中大约 20% 是 CYP2C19，高加索人中这种 CYP 大约为 5%。

在生物转化中具有药物遗传学差异的药物包括异喹胍、哌克昔林、苯乙双胍、美芬妥英、甲苯磺丁脲、氨苯砜、异烟肼和磺胺二甲嘧啶。后面三种药物主要通过 *N*-乙酰化被生物转化，这种途径对英国人而言，50% 可分类为慢速乙酰化个体，其余为快速乙酰化个体。

在现代药物开发中，要尽量避免开发那些只被一种酶生物转化的药物，而且又有许多人缺失这种酶。

1.5 性别

某些药物的生物转化在雄性和雌性中可能有差异。这样的性别差异在大鼠中相当普遍，大鼠可能是最广泛用于药物安全性评价的实验动物。这样的性别差异在人或其他实验动物中还是很少发生的。遇到这种性别差异时，药物生物转化通过像生长激素这样的激素来调节。

2. 环境因素

2.1 化学暴露

与化学物品接触有时是有意的，有些是无意识的。前者包括药物和食品添加物的摄取、喝酒和吸烟；后者包括摄取的食品中残留的农药和暴露在工厂或环境下的化学品。暴露的程度可能足以影响生物转化相关酶的活性，会导致活性的升高（诱导）或下降（抑制）。例如，巴比妥酸盐能导致酶活性升高，而甲氰咪胍使酶活性降低。起因于有机氯杀虫剂 DDT 和狄氏剂造成的诱导作用及其重要性已被广泛宣传了。生物转化抑制作用的重要性通常比诱导作用更危险，如特非那定和米贝拉地尔这类药物的酶抑制作用引起的药物间相互作用使人无法接受而不得不撤出临床。反之，另一些药物如酮康唑和奎尼丁虽是细胞色素 P450 有影响力的抑制剂，但还在临床应用。

2.2 饮食

日常饮食几乎包含无限的外源化合物，药物生物转化的酶可能已进化到可对付这些化合物。因此这些酶可以用来对付其后开发的药物。这些酶的活性能受膳食组分的影响，造成活性升高或减少，或两者兼而有之；如在饮酒时，酶活性在短时间内先下降（抑制）然后升高（诱导）。它们也能受营养状态所影响，显示在蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质和维生素的吸收。

2.3 应激反应

应激能扰乱身体保持良好状态，并且导致药物生物转化速率的改变。应激因素包括不正常气温、极端运动和疾病状态。

生物转化的部位

肝脏通常被认为是药物生物转化的主要部位。另外包括药物进出人体有关的器官和组织如肠道、肺、皮肤和肾脏，也起较大的作用。有的器官和组织对特定药物的生物转化也很重要。例如，硝酸甘油在血管组织中被生物转化。在个别器官或组织中，药物生物转化相关的酶系统不是均一分布的，但根据细胞类型活性有所不同，并且亚细胞定位作用也有所不同。例如，肺中细胞色素 P450 在克拉拉细胞里的活性相对较高。

虽然大多数器官和组织都含有药物生物转化相关的酶系统，但是酶活性可能是由特定的器官或组织特异性分布的一族酶所表达。这些酶的性质用某些化合物处理是可以改变的。

许多药物的生物转化速度通常在人体中比用于药物开发和安全性评价的实验动物中要慢。可能是因为各自的酶系统的活性较低，真正的药物生物转化的速度和动物体重在某种程度上是相关的。

对排出途径的影响

药物及其代谢物系统排出的两条主要途径是肾脏（泌尿）和肝脏（胆汁）。具体走哪条路线主要取决于代谢物的理化特性。硫酸结合物更多是在尿液中排出，而葡糖醛酸结合物通常是在胆汁中排出。谷胱甘肽结合物几乎全在胆汁中排出。但是，从胆汁中排出是有相对分子质量限制的，这依化合物或物种两方面而定。许多葡糖醛酸化合物在大鼠中几乎是通过胆汁排出，但是在人和人以外的灵长类动物中是通过尿液排出的。药物及其代谢物与硫酸、葡糖醛酸和谷胱甘肽结合后相对分子质量分别提高 80、177 和 307。大鼠和狗胆汁排出的相对分子质量阈值约为 330；兔和非人灵长类为 450；人为 500。

药物生物转化研究的方法

1. 体内

体内生物转化途径的研究需要收集和分析合适的生物样本。收集的样本类别包括尿、粪、呼出的气体、血液或血浆、胆汁、奶、唾液、滑液和组织。这些样本可以分为两类：①需要完整收集的样本（如尿和粪），可方便提供药物及其代谢物排出的定量和定性的资料；②如血液和奶等的样本，可在特定的时间采样以提供药物及其代谢物鉴定及与时间相关联的浓度的资料。以上类别的样本能从所有用于生物医学研究的普通实验动物获取。另外，除胆汁和组织之外，类似的样本通常可以从人体很容易得到。

研究鉴别代谢物的途径是研究生物样品中现存的特定化合物。定量的数据需要对每个特定化合物的生物分析方法进行论证，但是某些生物基质（如粪便）数据不是很容易获取。另外，未知代谢物的存在和干扰经常带来不确定性。

另外一种研究方法是试图分离和鉴别所有重要的代谢物而不重视可利用的参照化合物。这需要一种检测代谢物的明确方法，如利用药物同位素标记。将药物同位素标记在一个代谢稳定的位置，这种方法依据给予剂量的百分率，可以精确测量代谢物，由此来判断浓度或定量单位。用高压液相色谱和薄层色谱分离之后的同位素标记代谢物的检测和测量方法已很明确。

虽然用参照化合物作对照的层析方法可以为鉴别代谢物提供合理的证据，但用光谱技术更严格的特性来分离样品是极需要的。代谢物的分离和纯化是成功阐明结构的重要前提。化学纯度越高，鉴别成功的机会就越大。根据代谢物的生理化学性质来精确地选择方法有助于获得有用的样品。结构分析常用的技术是质谱法，因其将样品引入质谱仪的技术有很高的灵敏度和多样性。为了进一步开发以提高灵敏度和特异性，新的电离技术以及直接与高压液相色谱联用保证了质谱法的主要作用。核磁共振（特别是LC-NMR）是质谱法的又一种补充技术，它要求大量更高纯度的样品。此外，不常用的方法有红外和紫外光谱法。

2. 体外

几种生物系统能用于体外药物生物转化的研究。这些系统按下列顺序排列：灌注的器官、组织切片、分离到的细胞、亚细胞标本、粗酶制品和纯化的酶。情况是错综复杂的，这些系统从相对简单到很难使用，每个系统有其优点和缺点，没有一个是理想的。不容质疑的是，最常用的系统是亚细胞标本，因为其容易操作及便于使用，还有通常不需要昂贵的仪器。实际上早期生物转化的许多知识都是从亚细胞标本采集的。然而，为了更好地了解催化机制，底物特异性、酶动力学和纯化酶是必需的。近年来，与药物生物转化相关的 cDNA 表达的人体酶的不断增长极大地推动了药物的发现和开发。几种人细胞色素 P450 酶以及其他几种已经以这种形式在商业化上得以利用。当考虑一个化合物的整个生物转化时，灌注的器官和分离到的细胞常常被认为能更好地反映完整动物体内可能发生的一切，后者更常用一些。

参考文献

杂志

Chemical Research in Toxicology, Drug Metabolism and Disposition, European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Xenobiotica.

综述系列

Hawkins, D. R., Ed. Biotransformations; Royal Society of Chemistry: London, 1989－1996; 1－7.

Hinson, J. A., Ed. Drug Metabolism Reviews; Marcel Dekker, Inc.: New York.

专论

Gibson, G. G.; Skett, P. Introduction to Drug Metabolism, 2nd Ed.; Chapman and Hall: London, 1993.

Hansch, C., Sammes, P. G., Taylor, J. B., Eds. Comprehensive Medicinal Chemistry; Pergamon: Oxford, 1990; 5.

Testa, B.; Caldwell, J. The Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics: Biochemistry of Redox Reactions; Academic: London, 1995.

Timbrell, J. Principles of Biochemical Toxicology, 3rd Ed.; Taylor & Francis: London, 1999.

Woolf, T. F. Handbook of Drug Metabolism; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.

（张 辉 译）

Y

药物的水解

Kenneth A. Connors
University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, U. S. A.
Jason M. LePree
Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Ridgefield, Connecticut, U. S. A.

引言

术语“水解”是指一种化学反应，在该反应中加入水后化学键会发生断裂。它是最重要的药物分解途径之一，常发生在药物制剂的活性成分和赋形剂中。在某一常用的电子数据库中，用“水解“和“药物”作为组合关键词检索科学文献，共检索到 1989 年 1 月到 1999 年 9 月 3300 篇文献。已收集到的 91 种药物[1]稳定性数据分析结果表明，其中 70 种药物会发生水解反应。将其分类，61%为羧酸衍生物的水解反应，4.3%是磷酸衍生物的水解反应，20%是羰基衍生物的水解反应，14.3%是亲核取代反应，后者通常发生在脂肪链碳上。上述反应将在本章讨论。

水解反应及其机理

1. 羧酸衍生物

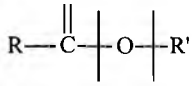
一些药物结构中有酰基，如在化合物 RCOX 中有 RCO^-，其中 X 称为离去基团。最重要的酰基或羧基化合物又称羧酸衍生物，列于表 1 中。酰基化合物的特征反应涉及 C—X 键的断裂。亲核基团 Y^- 攻击酰基化合物，最终结果致使 C—X 键断裂，形成 C—Y 键。上述反应列于方程(1)，所以又称酰基转移反应。

$$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-X + Y^- \longrightarrow R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-Y + X^- \qquad (1)$$

在水解反应中，H_2O（或 OH^-）攻击亲核基团，羧酸衍生物水解后，酰基转移到水分子上，如反应式（2）所示。

$$R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-X + HOH \rightleftharpoons R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-OH + HX \qquad (2)$$

酰基转移反应的一个重要例子是酯水解反应，其中两个位置可能发生断裂，生成相同的产物。如结构式 **1** 所示，上述可能性表现为酰基-氧键的断裂和烷基—氧键的断裂。



Ac Al

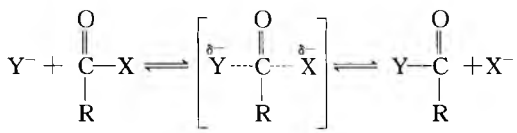
1

如方程式（3）所示，烷基—氧键断裂后，在碳键上接入一个亲核的基团。

$$R'CH_2-OCOR + Y^- \longrightarrow R'CH_2-Y + RCOO^- \qquad (3)$$
Al

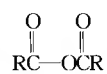
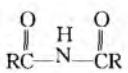
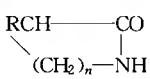
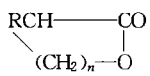
已经设计了一些方法，进行酯水解反应实验。几乎所有的实验都发现酰基—氧键的断裂是由于亲核基团攻击羧基引起的。酯键的水解反应按 Ingold 机理[2]进行，Ingold 对这种键的断裂进行了分类（Ac 或者 Al），反映分子数（1 或者 2）反映底物的离子形式［A 是指共轭酸 RC（OH）OR^+，B 是指共轭碱 RCOOR］。Ingold 酯水解反应的分类表见表 2。

Ac 键断裂的双分子反应，有两种合理的反应机制。第一种是直接加成法，类似于脂肪族的亲核取代 S_N2 机理。方程式（4）是该机理反应线路图。结构式 **2** 是过渡状态，因为它并未包括碳氧双键的电子再分配体，所以该结构式过分简化。



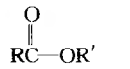
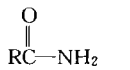
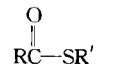
2 (4)

表 1 羧酸衍生物

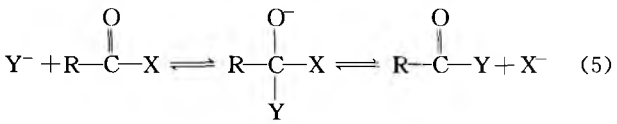
结构式	化学分类	备注
	酰氯	
	酸酐	
	酰亚胺	可循环，可被取代
	内酰胺	可被取代
	内酯	
	羧酸	

Y

续表

结构式	化学分类	备注
	酯	由R′决定是脂肪族还是芳香族
	酰胺	如图所示不可取代，或被H置换
	硫羟酸酯	

第二种反应机理是两步加成-消除法，见方程式（5）。该反应中由羧基亲核加成反应生成四面体中间体。



(5)

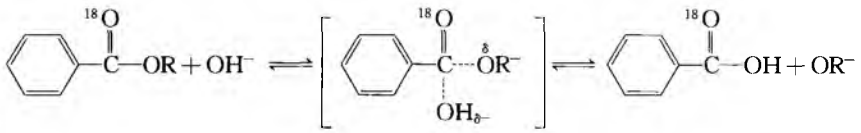
3

在1951年，Bender提出用于证实这些反应机理的是第一个诊断性试验[3]。在羧基的氧原子^{18}O附近富集酯，用以研究苯甲酸酯的碱性水解反应（即BAC2反应）。如果发生反应（6）中的S_N2反应机理，那么水解过程中溶剂就应当无^{18}O交换，因为羰基上的氧并不参与任何可逆反应。如方程式（7）所示，水解的同时，四面中间体机理通过对称分配，提供了一条^{18}O交换的途径。

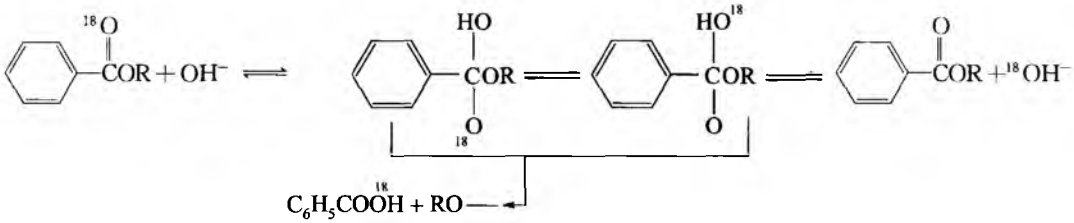
表2 酯水解反应的分类

共轭形式	断裂类型	
	酰基	烃基
酸	$A_{Ac}1$	A_{Al}（S_N1）
	$A_{Ac}2$	$A_{Al}2$（未知）
碱	$B_{Ac}1$（未知）	$B_{Al}1$（S_N1）
	$B_{Ac}2$	$B_{Al}2$（S_N2）

当苯甲酸乙酯上的羰基^{18}O发生碱性水解，反应过程中分离出的酯含有的^{18}O比起始时少（尽管这点不是明确）。即时氧交换和水解有力地证明了四面中间体的反应机理。另一些反应中不同的δ证据也证明了四面中间体的反应机理。例如，在一些试验中，用光谱法可以检测到该中间体；在一些反应中，当pH改变时，控速步骤也可能发生改变。这个发现只能用两步反应机理解释。

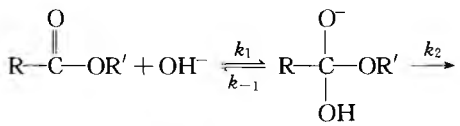


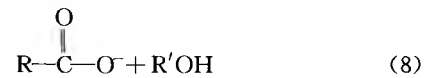
(6)



(7)

两步加成-消除反应现已用于描述水解反应机理。反应方程式（8）是酯碱性水解反应的例子。





(8)

方程式（9）是中间体生成的速率微分方程式。

$$\frac{d[I]}{dt} = K_1[OH^-][RCOOR'] - (k_{-1} + k_2)[I] \quad (9)$$

因为中间体的生成速率与消除速率一致，其浓度在反应中是恒定的，这种稳态可近似的表示为方程式（10）：

$$[I] = \frac{k_1[RCOOR'][OH^-]}{k_{-1} + k_2} \quad (10)$$

酯水解的速率是$v = k_2[I]$或如方程式（11）所示：

$$v = \frac{k_1[RCOOR'][OH^-]}{k_{-1}/k_2 + 1} \quad (11)$$

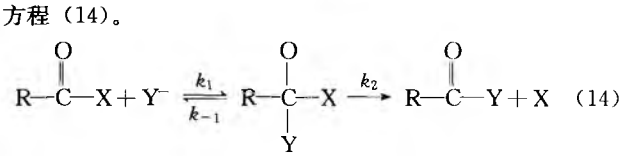
速率k_{-1}/k_2用来描述四面中间体在反应物状态和产品状态之间的分配速度。实验速率方程如方程式（12）所示：

$$v = k[RCOOR'][OH^-] \quad (12)$$

如果k是表观二次速率常数，那么它遵循方程式（13）

$$k = \frac{k_1}{k_{-1}/k_2 + 1} \quad (13)$$

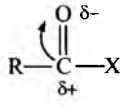
如果$k_2 \gg k_{-1}$，那么$k \approx k_1$，第一步就是反应的限速步骤；如果$k_2 \ll k_{-1}$，那么$k \approx k_1k_2/k_{-1}$，那么第二步（四面中间体的分解）就是反应的限速步骤。方程式（13）描述了反应中结构对反应活性的影响。由方程（8）又可以推出方程（14）。



(14)

方程（13）应用于这种动力学的模式，R、X和Y^-结构的变化，会分别影响k_1和k_{-1}/k_2[4]，进而影响k。如结

构式 **4** 所示，羧基会被极化。



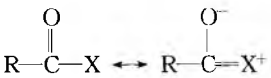
4

水解反应中生成的 OH^- 或者 H_2O 是亲核试剂 Y^-，会攻击外层电子不足的羧基碳，同时 R 和 X 外层电子的减少也有助于亲核试剂的攻击。上述作用会增加 k_1 的值，进而影响 k。与此同时，该结构的作用也会影响 k_{-1}/k_2。由 R 引起的外层电子减少会使 X^- 和 Y^- 离开四面中间体更困难，从而导致 k_{-1} 和 k_2 的减少，但 k_{-1}/k_2 的值基本不改变。X 能促进外层电子的减少，改变使 X 的能力提高的结构会使 k_{-1} 减少、k_2 增加、因而 k_{-1}/k_2 也会减少。上述作用结果对 k 值的影响，依赖于 k_{-1}/k_2 值与 1 的相对大小，如方程（13）所示。在大多数情况下，k 由 k_1 支配的。

前面的讨论可以解释很多具有相同酰基但又有不同离去基团的化合物水解反应。例如，酰胺、酯、酐和酰氯水解反应的难易顺序是：

$$RCOCl > RCOOCOR > RCOOR > RCONH_2$$

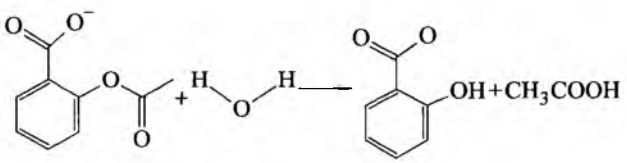
这样的排序表明，k_1 和 k_{-1}/k_2 值存在巨大的差异。上述排序中 k_1 受到诱导和共振效应的综合影响。共振效应使离去基团释放外层电子，转移到酰基上，如结构式 **5** 所示。



5

例如，该作用使酯水解的 k_1 小于酰胺。同时，k_{-1}/k_2 的值也会受到离去基团的影响（离核基团）。与 k_2 相反，由亲核试剂 X^- 攻击引起的反应中，碱性的 X^- 越多，亲核试剂的作用就越强。因此碱性离去基团 X^- 越多，离去基团的作用就越小，k_2 的值就越小。上述排序中，随着离去基团碱性的增加，$Cl^- < RCO_2^- < RO^- < NH_2^-$，酰胺化合物的 k_2 就小于酯的，以此类推。酰胺化合物的 k_{-1}/k_2 值最高，水解速率常数最小。因为离去基团的碱性可以通过测定其共轭酸的 pK_a 得知，所以和离去基团 pK_a（如酰基）有关的反应能力也可得知。因而，芳香酯（离去基团是苯氧离子）的活性强于脂肪族的酯（离去基团是羟基离子）。

一个很重要的药物酯水解反应例子是乙酰水杨酸的阴离子水解，如反应方程（15）所示。



6

(15)

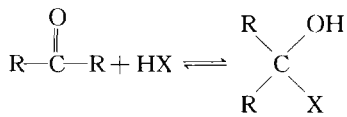
乙酰水杨酸的不稳定归因于两个结构特征：①它是芳香酯，如上所述，它比脂肪族的酯更不稳定。②乙酰氧基又和羧酸酯相邻。由于这个相邻关系，乙酰水杨酸易受分子内催化作用，引起酯的水解。乙酰水杨酸的 pK_a 是 3.6，当 pH 大于 5 时，它就以阴离子形式存在。分子内催化反应导致乙酰水杨酸在中性水溶液中不稳定。其他发生水解的例子包括内酯（环状酯）、酰胺、内酰胺（环酰胺）的水解，如华法令、对乙酰氨基酚和青霉素等。上述反应方程式见文献 [5]。

磷酸衍生物和羧酸衍生物可以一起讨论，这主要由于它们的反应原理相似。生物学上的结构分类非常重要[6]，几乎没有含磷酸衍生物的药品例子。为了讨论磷酸衍生物的水解，读者可以参考文献 [5]。

2. 羰基化合物的衍生物

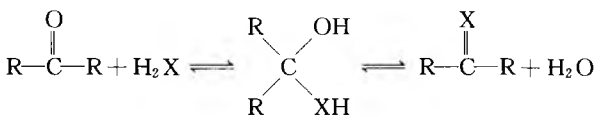
酰基（羧基）化合物 RCOX 的反应特征是 C—X 键的断裂。羰基化合物如醛 RCHO 和酮 R_2CO 的反应，没有 C—R 键或 C—H 键的断裂。许多药物是羰基化合物衍生物，但是它们并不属于同一类。

羰基的加成反应，发生在羰基的碳（它是吸电子的）以及加成物的亲核部分。方程（16）描述了反应物与可解离的质子的反应。



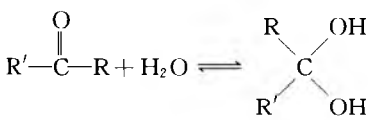
(16)

这是一种简单的加成反应，如果反应物有两个质子，就会发生两步加成-消除反应，如方程（17）所示。



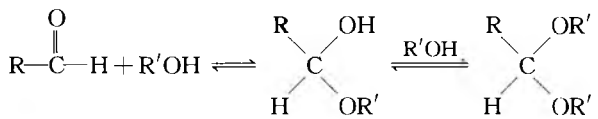
(17)

反应（17）是缩合反应，缩合反应的逆反应是 C—X 键的水解反应，这步反应也是我们的兴趣所在。如方程（18）所示，其反应产物是水合物。



(18)

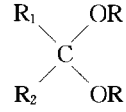
羰基化合物可以形成半缩醛（**7**），若有酸就可以形成乙缩醛，如方程（19），也属于水解反应。



7

(19)

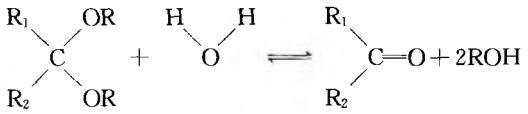
已彻底研究过乙缩醛（**8**，R_2 = H）、酮缩醇和原酸酯（**8**，R_2 = OR）的水解[7]。



8

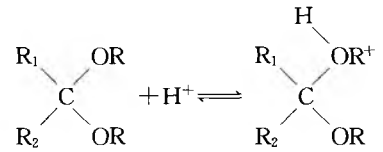
总反应如方程（20）所示。

Y

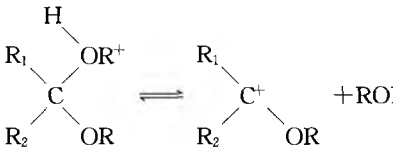


(20)

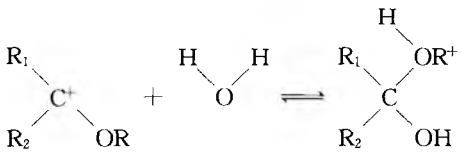
共轭酸的（或 Al 反应机理）单分子反应路线，如方程（21）～方程（24）所示。



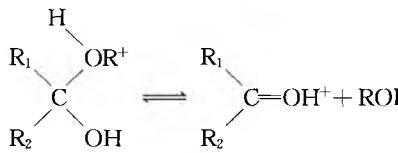
(21)



(22)



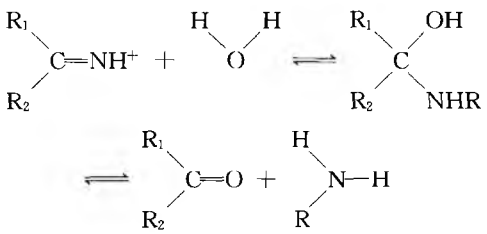
(23)



(24)

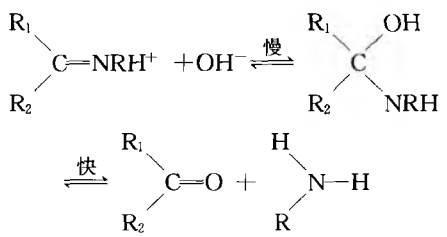
对乙缩醛的兴趣主要集中在碳水化合物上，因为多羟基醛主要以环状半缩醛存在[8]。例如，异羟洋地黄毒苷，具有乙缩醛基团，所以易于水解。

亚胺的水解反应是胺和羰基加成反应的逆反应，此两步反应如方程（25）所示。



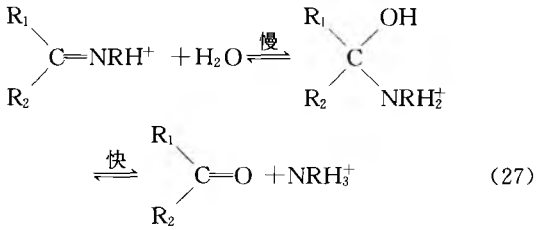
(25)

该反应动力学依赖于介质的 pH。碱性时，加水是控速步骤，反应中，由氢氧根离子攻击质子化的胺（就是由水攻击中性的亚胺），如方程（26）所示。



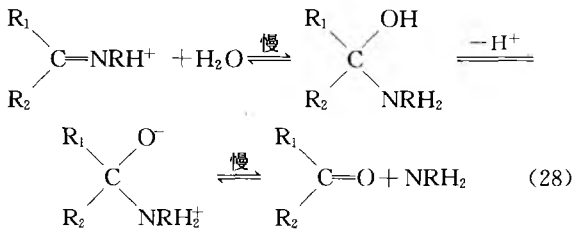
(26)

在低 pH 时，由于质子化的亚胺增加（一般的 pK_a 值在 6～7），氢氧化物的浓度减少，水对质子化的亚胺攻击就显得重要了，如方程（27）所示。



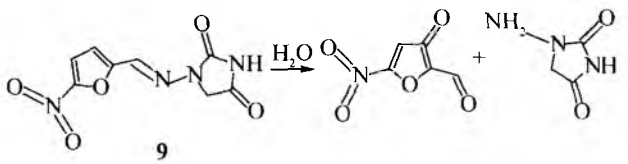
(27)

当所有的亚胺质子化后，反应速率就不依赖于 pH，但是当 pH 进一步减小时，控速反应就变成胺从甲醇胺中间体中消除的过程，如方程（28）所示。



(28)

亚胺水解的例子如硝化呋喃妥因（**9**）的水解，见方程（29）所示。



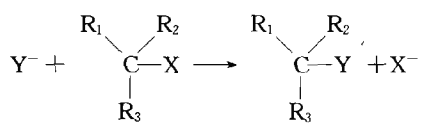
9

(29)

亲核取代

除了类似的反应，如酰基转移到亲核基团上以外，还有几类亲核取代反应，如脂肪族、芳烃上碳的取代，除了碳以外其他元素的取代，如金属-配位体的配位络合物中的金属元素。当然，脂肪族上的碳取代是最常见的。

典型的反应如方程（30）所示：



(30)

亲核试剂 Y^- 可以是阴离子或中性分子。在水解反应中，亲核试剂是 H_2O 或 OH^-。卤代烷基的水解反应一般如方程（31）所示。

$$OH^- + C_2H_5Br \longrightarrow C_2H_5OH + Br^- \quad (31)$$

已经证实，脂肪族的亲核取代有两种机理：第一种机理是二步反应，如方程（32）、方程（33）所示。

$$R{-}X \overset{\text{慢}}{\rightleftharpoons} R^+ + X^- \quad (32)$$

$$R^+ + Y^- \overset{\text{快}}{\rightleftharpoons} R{-}Y \quad (33)$$

第一步是控速步骤，使碳阳离子中间体发生离子化，该中间体又会在第二步时与亲核试剂反应。因为控速步骤中的过渡状态包括 R—X 而不是 Y^-，该反应是单分子的反应，记为 S_N1（单分子亲核取代反应）。反应速率不依赖于

亲核基团的种类和浓度，为一级动力学反应。

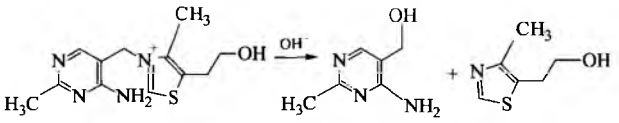
第二种机理是一步直接取代反应，如方程（34）所示

$$Y^- + R{-}X \longrightarrow [Y \cdots R \cdots X]^{\ddagger -} \longrightarrow R{-}Y + X^- \quad (34)$$

双分子的反应过程被称作 S_N2 机制，是二级动力学反应；如果亲核试剂是溶剂，则为表观一级动力学反应。括弧中的物质是过渡状态。

S_N 反应机理已有详细的研究[9,10]。使碳阳离子稳定的结构特征有利于 S_N1 反应机理，所以脂肪族上的三级取代物是通过 S_N1 路线反应。一级取代物是通过 S_N2 机理反应。二级取代反应的机理可能是 S_N1 或 S_N2，视反应的具体情况而定。另外，二级取代反应的机理也可能是边缘机理，有 S_N1 和 S_N2 的特征。在溶剂中，S_N2 反应路线的显著的特点是限速步骤中有共价键的参与。反应中其参与的程度可以通过研究反应速率中的溶剂效应[11]或压力效应[12]来估计，这种共价键的参与在 S_N1 中没有。

发生亲核取代反应的药物有盐酸硫胺（**10**），其断裂方式如方程（35）所示。阳离子基团支持电子转移，同时它也是很好的离去基团。



10

(35)

水解的动态现象

在实验研究以及解释水解反应速率时，通过许多动力学效应，探明水解反应本质，同时，获得了一些对于药物稳定性有显著实践意义的结果。关于温度依赖性、催化作用和溶剂效应的研究，详见文献 [5]。

参 考 文 献

1. Connors, K. A.; Amidon, G. L.; Stella, V. J. Chemical Stability of Pharmaceuticals, 2nd Ed.; Wiley-Interscience: New York, 1986; 1—864.
2. Ingold, C. K. Structure and Mechanism in Organic Chemistry; Ch. XIV; Cornell University Press: Ithaca New York, 1953; 751—791.
3. Bender, M. L. Oxygen Exchange as Evidence for the Existence of an Intermediate in Ester Hydrolysis. J. Am. Chem. Soc. 1951, 73, 1626—1629.
4. Bender, M. L. Mechanisms of Catalysis of Nucleophilic Reactions of Carboxylic Acid Derivatives. Chem. Revs. 1960, 60, 53—113.
5. Connors, K. A. Hydrolysis of Drugs. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 8, 1—29.
6. Bruice, T. C.; Benkovic, S. Bioorganic Chemistry; W. A. Benjamin: New York, 1966; 2, 1—786.
7. Cordes, E. H. Mechanism in Catalysis for the Hydrolysis of Acetols, Ketols and Ortho Esters. Prog. Phys. Org. Chem. 1967, 4, 1—44.
8. Capon, B. Mechanism in Carbohydrate Chemistry. Chem. Revs. 1969, 69, 407—498.
9. Ingold, C. K. Structure and Mechanism in Organic Chemistry; Ch. VII; Cornell University Press: Ithaca, New York, 1953; 306—418.
10. Bunton, C. A. Nucleophilic Substitution at a Saturated Carbon Atom; Elsevier: Amsterdam, 1963; 1—172.
11. Bentley, T. W.; Schleyer, P. V. R. Medium Effects on the Rates and Mechanisms of Solvolytic Reactions. Adv. Phys. Org. Chem. 1977, 14, 1—67.
12. Asano, T.; LeNoble, W. J. Activation and Reaction Volumes in Solution. Chem Revs. 1978, 78, 407—489.

进一步阅读

Conors, K. A. Chemical Kinetics: The Study of Reaction Rates in Solution; VCH: New York, 1990; 1—480.

Jencks, W. P. Catalysis in Chemistry and Enzymology; McGraw—Hill: New York, 1969; 1—836.

Maskill, H. The Physical Basis of Organic Chemistry; Oxford University Press: London, 1986; 1—490.

Stewart, R. The Proton: Applications to Organic Chemistry; Academic Press: Orlando, FL, 1985; 1—234.

（杨 莉 译）

药物的外包

Duane B. Lakings
Drug Safety Evaluation Consulting, Inc.,
Birmingham, Alabama, U. S. A.

引言

药物的外包是一项大业务，而且规模日益扩大，每年制药公司的研发预算超过400亿美元，其中1/5（约80亿美元）花费在合同服务组织（Contract Service Organization，CSO），这个数字在将来计划每年增长10%。CSO这个词包括合同研究组织（Contract Research Organization，CRO）、合同生产组织（Cnotract Manufacturing Organization，CMO）、现场管理组织（Site Management Organization，SMO）和提供制药工业客户合同服务的其他一些组织。大部分外包的努力投入在非临床药物开发、临床试验和药物开发过程中的生产上。然而，许多客户现在把CSO用于药物发现，以及发现对特定靶位具有生物活性的新化合物潜在开发特性，然后确定该先导物具有毒性极小，有望成为临床前候选药物的成药。本章的目的如下：

（1）描述CSO的历史和目前状态；

（2）讨论客户和CSO是怎么样互动的；

（3）统计CSO提供给客户的服务；

（4）介绍虚拟组织和顾问是怎样与客户和CSO联系的；

（5）介绍CSO目前的趋势。

本章内容不仅完整列出了所有的CSO，给客户提供一种或多种药物发现或开发过程的支持，而且从中可以获得很多CSO的详细信息以及他们提供的服务的报告，其中一些报告列在参考文献中；另外关于CSO能提供的服务信息的常见来源是互联网，在那里，大多数CSO有详细的并更新的网页。

外包的历史

CSO从20世纪40年代开始出现，但是在过去30年他主要参与药物研发过程，参与药物的发现只有10年或更少时间。第一个提供药品开发服务的公司是非赢利的研究院，如斯坦福研究院（现在为SRI国际研究院）和中西部研究院。随着法规要求非临床安全研究（主要是毒理研究）需按GLP的规范进行，为了赢利，CSO开始提供慢性毒性和致癌研究支持。几乎在同时，说明安全性和新化合物（NCE）有效性的临床试验要求急剧增加，颁布了临床试验规范（GCP），临床试验申办者的临床研究协会（Clinical Research Associate，CRA）开始进行监察和检查临床试验，以确保病例报告表收集的数据和其他文件能准确反映原始数据。制药公司先是雇用独立的CRA，然后是由CRO来独立审核临床试验研究场所。

20世纪80年代，一个新的角色进入了这个领域，生物技术倾向于将大分子制成治疗药物。尽管许多新公司拥有优秀的生物和制药技术专家，但他们很少了解一个创新点开发一个治疗药物所需的非临床研究、临床研究规范，以及生产要求。所以，这些新公司转向CSO。然而，即使不是所有，也是大部分服务提供者也不知道怎样才能有效地研究和开发大分子药物。所以生物技术公司、管理机构和CSO迅速学习怎样能解决大分子研究的主要问题。提交一个IND申请后，生物技术公司转向CSO要求帮助管理临床试验，这就要求CSO扩大其服务范围，包括方案制定、CRF表设计、研究机构选择、数据管理、统计评价和书写报告。随着外包量的增长，临床的CSO数量迅速增长。

20世纪90年代，几个主要事件又改变了CSO的活动领域，组合化学技术和高通量筛选技术产生了一些化合物库，迅速评价化合物库中化合物的生物活性和用生物信息学评价和管理产生的大量数据的能力改变了药物的发现过程。人类基因图谱将使治疗靶的数量急剧增加，这个数量将从现在的数百个到几年后的成千上万个。要求药物发现小组能迅速地发现新药候选物进入药物开发的流程，一些公司已经建立或正在建立内部小组来适应这种挑战，一些公司则与小的生物技术公司结成合作伙伴，还有一些则结合这两种方式。除此之外，很多新的CSO开始提供在基因图谱、蛋白质组学、组合化学、高通道筛选和生物信息这些新领域的研究服务。

外包的目前状态

CSO正在迅速适应他们客户的需求，采取的措施可分为两类。一些CSO，例如MDS和Quintiles Transnational试图成为全程服务公司或几乎全程服务公司，他们提供的服务包括药物发现、开发潜力判断、非临床药物开发、临床试验研究和生产。另一些CSO则专注于一个特定领域，如动物药理研究、Ⅱ期到Ⅳ期临床支持。许多制药工业观察家认为，中型规模的CSO在今后几年将消失，要么通过和其他CSO合并，或者被更大的CSO或想进入这个高速发展但竞争激烈的领域发展的公司收购。

仅仅几年前，药物发现研究还从来没有外包给CSO公司。大学里研究小组的基金用于开发新的模型，并在这些新模型上检验新发现的先导化合物。除了大学的研究小组外，现在许多制药公司还利用CSO来支持他们的药物发现

工作。在过去10年，从药物发现到药物开发的转变过程也发生了本质变化。现在许多CSO支持这个快速增长的领域，以帮助他们的客户判断是否一个新发现的先导化合物具有进一步开发的必要性。CSO工业最坚实的优势在于非临床研究和临床药物开发，以前在一个领域提供服务的合同者正在增加其他的服务，以使他们能更好地为客户服务。这些增加过程常常伴随着并购已经能提供所需服务的CSO，但一些CSO正在发展和增强他们自己的能力。在CSO提供生产支持的领域，也有着相似的变化。能生产GMP质量的药物和药品的服务能力也得到加强，如药品的有效期稳定性研究和杂质研究的服务。

随着不断的巩固和扩张，大型CSO正变得越来越大，现在叫做巨型CSO。1996年以来，最大的8个CSO进行了40多次收购，表明收购正在从小型CSO转移到大的CSO。最近一些广泛宣传的收购，包括Quintile并购Innovex and Medical Action Communication和Butler Clinical Recruitment Service。2000年被MDS收购的Phoenix国际生命科学，现在称作MDS Pharm Services，从1995年开始扩张，进行了下列收购，即I. T. E. M. Holding S. A、IBRD-Rostrum Global、Institute for Pharmacodynamic Research、Anawa Holding、McKnight和Clinserve，以提供跨国的临床研究能力，并购Chrysalis International以增强其非临床开发服务。PPD公司并购了Wisconsin Analytical and Research Service、Gabbay Group，Ltd.、Applied Bioscience International，Inc.、Belmont Research、SARCO，Inc.、GSX Technology和ATP。也发生了许多其他的合并和收购，这个趋势还会继续存在。然而，对于与其他CSO合并或被收购的CSO而言，一种新的角色，通常能提供一种新的服务，如基因组学或体外代谢服务，进入这个领域。对制药客户来说是选择巨型CSO还是许多小的专业的CSO是个需要回答的问题。换一个问法即是否一站式购物比寻找许多提供有限服务的专卖店更好呢?

随着制药客户为全球市场开发候选药物，CSO已经把他们的主要业务——临床试验支持扩展到不但包括北美、欧洲、日本而且包括许多即将出现的市场。制药公司能进入国外市场和CSO能为这些市场提供支持服务的主要原因，在于通过国际协调会议（ICH）和ICH指导原则的努力，使药物研发过程变得协调，虽然ICH指导原则目前只适用于美国、欧洲和日本的研究，但大多数其他国家也正在适应这些指导原则。目前发布的ICH指导原则主要针对药物和药品的质量、非临床安全性和临床试验。CSO虽然不是ICH指南制定的主要参与者，但却是实施这些指南的有影响力的群体。

客户和承包商的相互关系

外包现已成为几乎所有制药公司的常规活动，例如，使用CSO支持临床试验研究的某些方面所占临床研究的比例已从1993年的大约30%增长到1997年的60%。客户选择CSO的程序以及客户与CSO交流方式，能确保合同研究能得到合适的监控，并且按时按预算完成。

制药公司筛选了一个治愈人类疾病的先导化合物，由于多种原因，公司管理层决定由CSO来完成一些或所有法规要求的非临床和临床研究，甚至药物开发的生产。药物开发项目组通常负责协调外包项目，并确保开发项目按时、按计划、按预算完成。对于小公司而言，这项工作可能仅仅由2～3名研究人员承担，所以这就需要他们对外包研究的每一个学科有很好的理解。许多公司的常规做法是聘请一个咨询师或咨询公司来协助完成外包。

要想在CSO成功地实施研究项目，首先要确认该药物开发项目的哪些方面将在CSO实施，以及确定这些研究开始和完成的时限，这样实验结果就可以用来决策和向法规机构提交。一个构建良好的药物开发计划会提供很多这些信息。客户需要识别并选择合适的CSO来进行所需的研究，客户也必须监控CSO以确保研究按照研究方案进行，并且确保得到的结果第一时间合适地记录在研究记录里，以后再记录于研究报告中。

1. CSO的挑选

客户识别选择CSO的过程包括但不仅限于以下几条：

- 为签约的每一个研究项目做好详细的研究设计；
- 决定考虑哪些CSO；
- 为每个选择的CSO的每一个研究设计征求成本和时间花费方案；
- 评价这些方案并选择进一步考虑的CSO；
- 进行实地考察以确保该CSO有资格进行该项研究；
- 商谈完成研究项目的时间和费用；
- 选择CSO并为外包的每个研究项目签合同。

识别和选择过程的人工花费取决于签约的研究项目的规模大小。通常，每个外包研究项目最少需要1～2个人工来有效评估3～4个CSO。许多客户使用咨询师来协助CSO选择过程。然而，这些客户需要确保咨询师有必要的CSO运作的专业和知识。一个常见的错误是雇佣一个具备疾病领域专业知识但对于研究领域（如毒理学和药物代谢）不熟悉的咨询师，或者是雇佣具备法规知识但不具备成功定性一个候选药物的专业知识的咨询师。

客户通常用三种方式中一种识别CSO，这些方式分别为虚拟的、预选的和专门的研究。那些没有资源进行GLP、GCP或者GMP法规要求的研究的客户喜欢虚拟的方式，一个主要的好处是各种用来支持法规所要求的研究的专业知识和硬件设施能够集中用于完成研究项目，客户无须再去建一个内部团队或设施而耽误大量的时间。一个主要的局限是客户很可能因没有选择好的CSO或者CSO不善于管理从而遭受损失。在预选方式中，一部分CSO被预先授予资格来支持客户可能的外包需求。这个资格认证过程通常包括一个详细的实地考察以确定哪类研究项目能够由CSO来完成。这种方式能提供客户与CSO协同的工作关系，一个主要的缺点是存在不必要的外包限制。如果许多CSO有

所要求的专业经验，但客户预先资格审核的只是其中的一小部分，则其他更好的CSO可能就没有考虑。至于最后一种方式——专门的研究，一些客户用来与合同者进行单项或少量的研究。这种方式可以使得药物开发计划中的关键研究环节按时完成。然而，一些公司将所有的外包均使用这种方式，然后试图将这些各自独立的研究结果整合成一个药物开发报告。对于有丰富药物开发经验的客户来说，这个方法可能行得通，但在识别选择CSO、监控多家CSO、整合不同的研究结果上要做出相当大的努力。通常，CSO不倾向使用这种方式，因为这样他们只是“一双手”，对整个研究项目缺乏全局性的理解，因此不能提供客户足够的专业知识。无论选择哪种方式，客户都需要慎重选择CSO，一个进行不善的研究会延缓药物开发进程，直到重复进行该项研究并将结果整合进去。如果这是在药物开发关键途径上的延误，那么向管理机构提交资料的预定时间不得不改变，从而推迟批准上市时间，客户的收入受到损失。

当评价和选择CSO的时候，客户关注的是哪些项目呢？这个清单会很长，下面只列出其中的少数标准：

- 项目管理技能：CSO项目经理保证合约行为会按时和有效地完成。为了建立让人接收的工作安排，应当尽早确定这个人。
- 研究领域和从医经历：一个在多学科和治疗领域有经验的CSO将有一群智囊专家，可以进行评估。
- 弹性和适应性：适应研究参数和时限变化的能力对于理解药物发展和开发过程的动态本质是十分重要的。CSO必须有能力与客户进行有效的交流以改进研究设计或者正在进行的研究项目。
- 时间要求：CSO应该有能力按照预定的时间框架提供合约服务。
- 完整性：形成的结果必须是准确的、完整的和公正的，来自其他客户的以前的表现和参考有助于判断该CSO在提供“好的”和“坏的”信息时是怎样操作的。
- 质量保证意识：CSO应建立程序以确保高质量工作和遵守当前的法规。审核CSO的标准操作程序（SOP）手册以及与质量保证经理的讨论将提供这些信息。同时，也要查看最近的管理机构的审计的结果。
- 培训：记录在案的培训过程保证所有研究人员有必需的技能以进行他们合约研究项目某一方面的工作。
- 提供服务：CSO在尽可能短的时间内提供一个足够广泛的服务领域来进行合约研究项目。所提供的服务能预期合约项目需求并对项目动态过程做出快速反应。
- 交流：CSO以一种可以接受的形式和时间提供信息。在客户与CSO之间应存在一直公开的交流。
- 合作关系：CSO把自己视为客户的一个以服务为导向的合作伙伴。CSO创造一个团队氛围，作为客户项目团队的延伸完成任务。

以上未列出的一个项目是成本因素。大多数客户都将费用作为一个评价指标，有时甚至是唯一的指标。尽管成本因素很重要，但它也应该与其他的CSO选择标准一起加以评估。一个提供最低价格的CSO可能做不到：

- 充分理解研究项目的目的；
- 按照预期时间进行相关研究；
- 包括所有的测试或评估以支持注册申请；
- 提供完整的研究结果评估。

如果所有其他的选择标准在CSO中都是等同的，那么成本因素能够而且应该作为选择合作者的标准。一旦选择了某个CSO，那么时间和费用的谈判显然会确保客户以最适宜的价格得到最优质的研究服务。

2. CSO监控

识别和选择过程仅仅是CSO的第一步，第二步涉及监控CSO以确保研究项目按研究方案进行，并且能够用合适的方法和程序得到结果，以及产生的数据资料能够在研究报告中正确地加以记录。许多客户雇佣公司，比如其他的CSO或顾问来监控外包研究项目，特别是临床试验和生产项目。在此过程中，客户应该使用相同的技术来选择和评估监察者，正如他们识别CSO一样。监控CSO研究应该包括但不限于以下几项：

- 审核并批准方案，该方案应该提供研究项目所有方面的信息，详细说明应该遵守的研究规程，确保研究顺利完成；
- 监控每一项研究的各个方面，确保搜集的数据不包含“令人惊讶的数据”（该数据会阻止研究结果不能用于支持注册申请）；
- 协助评估和解释结果以确保数据分析可接受，并且与描述实验结果的报告正确相关；
- 审核研究报告以确保它们准确地反映研究结果，记录任何对于研究方案的偏离，并且给出合适的结论。

合适监察CSO进行的研究项目所需的人工数取决于研究项目的规模。通常一项临床研究项目对每月随访或住院患者的监察需要约1周的人工，包括检查和批准研究报告所需的时间。

药物发现的外包

药物开发竭力想找到发现新化合物的新方法，并且寻找治疗各种影响人类疾病的新靶点。多年来首先合成单个化合物，然后纯化并得到新化合物的理化特征，最后在一个特定人类疾病的药理模型中试验新化合物。制药工业期望组合化学成为合成大量结构独特的化合物的新途径，高通量筛选用来测试这些化合物对靶点的生物活性，基因组学识别那些可能是新药物作用靶点的酶和蛋白质的基因编码，蛋白质组学合成新识别的天然蛋白质并研究其在体内的功能，生物信息学组织和评价得到大量数据。一旦选中一个，更可能是进一步研究一组先导化合物在体外和体内的药理模型中的生物活性，并用构效关系技术进一步修饰分子结构，以得到更高效价和特异性的新化合物实体，这就意味着这些先导化合物有着很小的或可接受的副作用，

对其他的生理功能和器官系统的干扰很小。

为了使每一个新的治疗药物上市，目前用于药物发现和开发过程的成本将近5亿美元，时间长达12～14年。图1显示了时间和成本曲线。与临床、非临床和制造阶段相比，药物发现和临床前或者说前几年费用相对较低。临床、非临床和制造的费用占总费用的80%以上，耗时超过一半。5亿费用包括花在失败的化合物上的钱，那些化合物被认为对靶点有生物活性但没能成功完成开发过程。因为发现的先导化合物中，进入临床前开发的仅有大约2%能进入临床研究，而且这些候选药物中估计只有5%进入新药申请（NDA）程序，总成功率大约0.1%，发现和淘汰失败药物用掉超过80%的费用和一半的时间，才能将新药上市。在流程的早期识别失败药物，将珍贵的资源留给更有希望成功的化合物的发现，公司能大幅度减少每个新药的总费用，并将珍贵的资源用于发现和开发更有可能成为成功者的化合物，从而缩短药物发现和开发的时间。

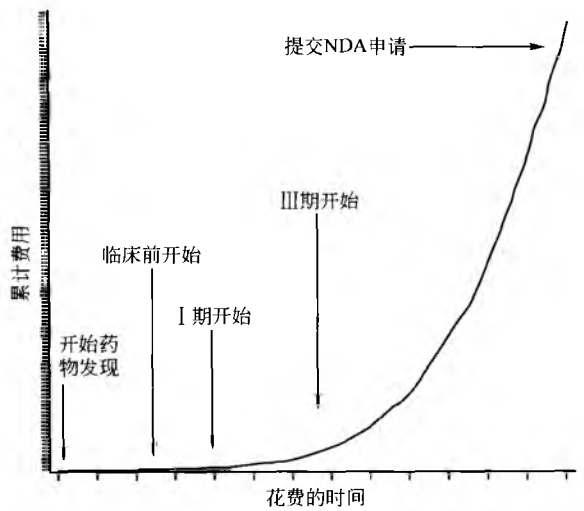


图1 药物发现和开发的时间和费用

所有成功的制药公司都明白这个问题，并且一直寻找新的方法来加速这个过程并减少费用。其中使用得越来越多的方法之一就是对一些或者所有的药物发现和药理方面的研究进行外包，因为CSO拥有的专门技术在一家制药公司不一定有，制药公司建立这些技术在时间以及资源上都很昂贵。本章总结了现在药物发现过程涉及的学科领域。因为在这个快速发展的领域，技术和流程变化非常快，仅仅能够提供一些概要的信息。一些CSO能够提供超过一个药物发现领域的服务，见表1。

表1 CSO提供的不同药物发现服务

CSO	Gene[1]	Prot[2]	Chem[3]	Screen[4]	Bioinf[5]	Pharm[6]
Axiom Biotechnologies				×	×	×
Cellomics				×	×	×
Commonwealth	×	×	×			

续表

CSO	Gene[1]	Prot[2]	Chem[3]	Screen[4]	Bioinf[5]	Pharm[6]
Biotechnologies, Inc						
Genespan	×	×		×		×
Jerini Bio Tools			×	×		×
Marin Biologic	×	×	×		×	×
MDS		×	×	×		×
MRI	×	×	×			×
PPD, Inc	×		×	×	×	×
SRA Life Sciences	×			×		×
SRI International			×	×		×
THETAGEN	×		×		×	
TNO Pharm Institute	×	×		×		×

1）基因组研究，包括测序、克隆和分析。

2）蛋白质组研究，包括表达和分析。

3）化合物的化学合成，包括组合化学合成小分子有机分子、多肽和寡肽库。

4）药理活性的先导药物发现筛选，包括HTS和分析方法的建立。

5）用于基因组、蛋白质组、化学和药理学研究的生物信息技术。

6）体内外模型的药理学评价。

整个人类基因组计划在2002年完成测序。人类基因组包括60 000～80 000个基因是蛋白质密码，这里面有许多基因可能成为调控人类疾病的新靶点，而其他许多基因在药物治疗方面则不具有成为药物新靶点的潜在性能。现在的计划表明，有5000～10 000的基因，或者大约10%，可能具有部分细胞调控功能，或者能够产生信号来激活或抑制细胞外来物或其他细胞。与化合物库或者HTS技术的结合，希望从这些新靶点中能够找到治疗疾病的新方法。这里一个主要问题是确定这些基因哪些在疾病过程中起重要作用，哪些不重要。蛋白质组学能够在这个过程中起到作用。新发现的基因能够转染至细菌或者哺乳动物细胞株，产生足够的蛋白质以便进一步鉴定和研究。

组合化学技术和自动库合成与传统药物化学原理的融合为建库提供了一个更合理的方法，为制药公司提供了数以万计的新化合物。生成多种库的优点包括：在随机发现筛选程序中作为天然样品的合成替代品，以及提供一种系统的SAR研究的方法，可以帮助化学家和药理学家来确定药效基团以及其他化合物结构特性，而这些基团以及结构特性可能对代谢稳定性、水中溶解度，以及膜穿透性起到重要作用。这里一个重要方面是分子建模，这对理解化学反应很关键，能够用于结构建模、提供构象分析、开发药效基团或者其他的结构特性。为此许多CSO提供小的有机分子和大分子的组合化学服务以及经典的合成服务。

库或者其他的化合物资源可以用来筛选生物活性物质，通常情况下利用体内系统的已知的生物化学过程来筛选是

很麻烦的。靶系统的确认和鉴定可能是限速步骤，特别是对新发现的、基因组确定的靶。越来越多的化合物需要测定，这需要药理学家发明新的技术，来更快地筛选生物活性。出现了大量的新靶，许多制药公司开始向 CSO 在 HTS 分析系统的开发和应用上寻求帮助，来评估库中的新化合物的生物活性。

生物信息学可以帮助理解信息内容以及生物系统和过程的信息流，并且随着数据数量和多样性的空前增长变得越来越重要。生物信息学技术的应用包括理解生物学过程，以及它们如何出现功能障碍，因此生物信息学在药物发现和开发过程中占有重要地位。目前，多数蛋白质的作用和功能的信息并不完全而且通常都不存在。生物信息学能够帮助研究者理解每种基因产生哪些蛋白质，测定这些蛋白质的生理学作用和功能。生物信息学有助于选择药物靶点、生物学途径、受体功能、基因调节、细胞间通信系统，以及它们的相互作用和对正常和疾病状态的影响。大量 CSO 已经开发了生物信息学工具和技术，并且为顾客提供相关服务。因为这一领域发展很快，而且新的人员也在一直不断进入这一领域，有关生物信息学的 CSO 清单都会在出版前就过期。

在鉴定了一个生物活性化合物之后，将会做更多的实验以进一步研究药理活性。这些研究通常都用体内模型来进行，同时也进行先导化合物类似物的作用机理研究来保证化合物的高效及特异性。这种经典的体内方法可以用来评价生物有效性，与体外系统相比，这是一种更加严格的 SAR 评价，因为这些先导化合物：

- 必须用动物模型给药，并且到达作用部位；
- 易被药物代谢酶降解；
- 在描述新的活性或者不良反应时可能导致意外的反应；
- 必须防止先导化合物在到达靶部位之前的正常的清除过程，以保证有足够的浓度来引发需要的生物学反应。

由于这些或者其他的原因，多数的药理学家仍然把体内动物模型评价一个新发现的先导化合物的药理学，作为黄金标准来评价生物效能和特异性。在 SAR 测定中，一个很重要的要求是有或寻找一种动物模型与人类疾病能够相关。寻找这些动物模型可能要花费很多时间和金钱，许多重要的人类疾病还没有可预测的动物模型。寻找这些疾病可接受的动物模型是制药公司的首要任务。许多 CSO 参与到建立新的体内动物模型中，一旦有了可用的模型，就会把这些新模型提供给顾客。

具有开发潜力的研究外包

完整的药物发现研究表明，一个先导化合物能够调节疾病过程，且有作为治疗人类疾病药物的潜力。但是这个先导化合物可以转到临床前药物开发的研究中吗？还是要进行更多的、没有明确规定的实验来确定先导化合物的全部性质？如果有必要进行更多的研究，应该做哪些实验？本节描述了一些实验，可以评价先导化合物成为候选药物开发的潜力，并提供有关 CSO 可以在这些相当前沿的和快速发展的领域提供服务的信息。这些不确定的研究可能暴露一些问题，这些问题必须在开始确定的临床前开发研究、设计临床试验方案来评价人体安全性和有效性之前解决。评价一个先导化合物的开发潜能，有效安排研究计划，有许多问题要回答。这些问题包括如下几个方面，但并不局限于此：

- 候选药物的人类疾病适应证是什么？
- 在人体临床研究中，有哪些建议的给药途径和给药频率？
- 先导化合物在体内要多长时间才能引发需要的药理学反应？
- 先导化合物的物理化学性质对到达作用部位有影响吗？
- 是否能够合成足够量的先导化合物来进行药物开发计划？

评价一个先导化合物的开发潜力或者评价哪个化合物有更多的可开发的优点和更少的不足，涉及六个学科，见图 2。发现先导化合物优化的经典方法是转向药理基团的活性研究。选择具有最高活性的先导化合物进行进一步的研究。在过去的几年里，策略的重大变化是增加了生物利用度的筛选或药物输送、化学或代谢的稳定性，有时候还有药代动力学或毒理学来补充药理学试验。药物输送基团可以评价先导化合物是否可以通过建议的临床给药途径有效输送。基团的溶解性和稳定性定义了哪些先导化合物容易降解而不适合剂型开发，或水溶性差，首先溶解后服用，不能仍留在溶液中。药代动力学研究先导化合物的生理学分布和处置。药物代谢研究先导化合物代谢成无活性或有活性的代谢物的可能，同时也能进行药物相互作用研究，这项研究推荐作为药物开发过程的一部分[1]。体外毒理学评价细胞的、遗传上的先导化合物以及免疫毒性，最后，进行动物的急性毒理研究来选择最有可能开发成功的先导化合物。这里急毒研究并不是 LD_{50} 研究，后者在整个风险评估中并不需要[2]。如果药理学定义的活性不能满足开发的要求，那么制药公司至少有两种选择：第一，选择一种最好的总体特性的化合物，进入正式开发，最后极有可能选择的候选化合物是临床前或临床上的失败药物。第二，开始一个发现过程，期望下次可以找到一个可以接受的先导化合物，而且损失的这段时间内没有竞争者发现可接受的化合物在市场上首先上市。

安全药理学评价一般情况下作为毒理学研究的一部分，但是在实际的药理学研究中，增大的剂量设计将会揭示一种已知的先导化合物或药物候选化合物产生不良反应的可能性，或者在主要器官系统中有次级药理学作用的可能性。安全药理学通常在选定先导化合物进一步开发后不久就进行，结果就用来辅助决定继续开发是否具有保障，支持提交到管理机构，发现可能的不良反应。ICH 指导原则[3]要求安全药理学研究包括一些对重要功能的作用评价，如心

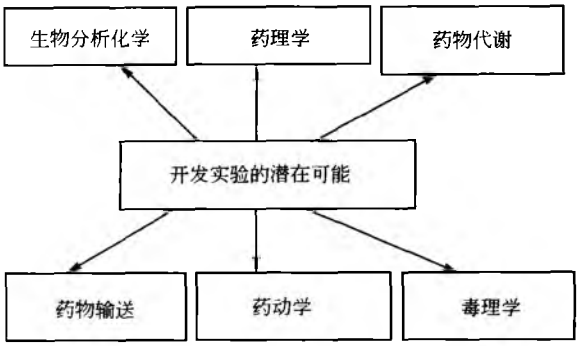


图 2 潜在开发可行性评估涉及的学科和技术领域

血管、中枢神经以及呼吸系统，而且这些实验应该在进行人体研究之前进行。为了与当前的注册要求一致，多数的制药公司，委托 CSO 进行一系列测试，有时候可以再细分，首先测定化合物的特定性质，然后当发现反应时对该领域加以更全面的研究。

在过去的几年里，人们建立了快速评价大量先导化合物开发潜力参数的技术，现在由大量的 CSO 为顾客提供这样的服务。这些筛选方法用少量的化合物，有时候，在一个样品上能够同时评价一种以上的化合物。少数的 CSO 在药物开发的可能性以及在他们拥有专门知识的学科方面为顾客提供一种以上的服务，如表 2 所示。

表 2 CSO 提供的开发潜力评估服务

CSO	Tox[1)]	SafPh[2)]	DM[3)]	PKd[4)]	DDel[5)]	Bioan[6)]
CEDRA			×			×
Genespan	×			×		
GENETEST	×		×	×	×	×
Huntingdon Life Sciences	×	×				
InVitro Technologies	×		×	×	×	×
Marin Biologic	×					×
MetaXen			×		×	×
MRI	×			×	×	×
NaviCyte				×	×	×
MDS	×	×	×	×	×	×
Primedica		×		×		×
SRA-Serquest	×			×		×
SRA Life Sciences	×		×			×
SRI International	×	×	×			×
TNO Pharm Institute	×	×	×	×	×	×

1）体外和体内急性毒理学。

2）安全药理学。

3）体外药物代谢，包括酶诱导的，代谢稳定性。

4）体外和体内药动学，包括蛋白质结合及药物-药物的相互作用。

5）药物输送，包括体外、体内的吸收评价。

6）生物分析化学方法的开发和支持。

非临床药物开发的外包

在人体临床研究之前，候选药物要进行各种临床前研究来确定它的安全性和在动物模型中的处置行为。在进入临床研究之后，就可获得候选药物在相关物种（人）中的药代动力学和毒理学信息。考虑到用这些新信息来确定这些动物模型是否能预测药物在人体中的有效性和安全性，早期药物开发实验的结果通常需要重新评价。如果动物结果是可外推的，那么余下的非临床动物研究是非常直接的，可以为候选药物的安全性提供可支持的信息。然而，如果早期的动物模型数据不能够外推至人，那么仍然需要额外的动物实验对所观察到的人体药理或毒理现象进行更加全面的了解。下面的讨论介绍了关于进行非临床药物开发研究的概况，可以分为下面几大类：生物分析、分析化学、剂型开发、药代动力学研究、药物代谢和毒理。表 3 为一些 CSO 提供的这方面的服务。

表 3 CSO 提供的多种非临床服务

CSO	Tox[1)]	PK[2)]	DM[3)]	Bioan[4)]	Form[5)]
ABC Laboratories		×	×	×	
BIBRA International	×	×	×	×	
BioReliance	×		×	×	
Center de Recherches Biologiques	×	×	×	×	
ClinTrials Research	×		×	×	
Covance	×		×	×	×
Huntingdon Lire Sciences	×	×	×	×	×
IIT Research Institute	×	×	×		
ILEX Oncology	×	×		×	×
Inveresk Research International Limited	×	×	×	×	×
ITR Laboratories Canada	×	×	×	×	×
LCG Bioscience	×	×	×	×	
Lovelace Respiratory Research Institute	×	×		×	×
MDS Pharmaceutical Services	×	×	×	×	
MRI	×	×	×	×	×
Northview Biosciences	×			×	×
Nucro-Technics	×			×	×
Oneida Research Services		×		×	×
Oread, Inc.	×		×	×	×
PPD, Inc.		×	×	×	
Primedica	×	×	×	×	×
Quintiles Transnational	×	×	×	×	×
Ricerca	×	×	×	×	×
SGS Biopharma-Lab Simon	×	×		×	×
SRI-Serquest	×	×	×		×
SRI International	×	×	×	×	×
STS duoTEK	×		×	×	×
TNO Pharma Institute	×	×	×	×	×
WIL Research Laboratories	×	×	×	×	×

Y

1）毒理学，包括亚慢性、慢性、生殖致癌性。
2）药动学，包括毒代动力学。
3）药物代谢，包括放射标记合成。
4）生物分析化学。
5）处方评价，包括溶解度、稳定性和输送。

在分析方法进行合理验证后，要用一种生物分析化学方法来支持确切的药代动力学和毒理学研究。这个验证实验可以确定可靠的结果接受和不可接受的标准、定量的上下限、准确度、精确度、特异性、回收率，还应包括适当的稳定性研究[4,5]。验证的方法需要记录于分析规程中，上面列有每一项评价参数的可接受和不可接受的标准，并由合理的 SOP 支持。

分析化学和剂型开发以及定性属于生产活动；然而，这些功能是成功完成非临床和临床研究的关键。生产外包一节提供了对分析化学和剂型开发的总结性讨论。

毒理研究和潜在的药代动力学曲线的种属差异研究所用的剂量范围，可供临床前药代动力学和生物利用度实验，用于评价这个剂量范围的剂量比例。通过加入一两个静脉注射剂量水平进行研究，可以测定得到绝对生物利用度，并得到吸收、分布以及处置动力学的线性关系的信息。如果有一种以上的药物剂型用于毒理学研究，剂型之间的相对生物利用度实验可以测定药物吸收程度是相似的和还是不同，从而推测出不同动物种属之间的药理和毒理实验结果，这种推测在随后的设计非临床研究和临床Ⅰ期安全性和耐受性实验是有意义，而且有用的。药代动力学的另外一个重要应用是测定在实验物种上的暴露程度和时间，或者毒理动力学。ICH 指导原则[6]讨论了用毒代动力学数据来支持候选药物的开发研究。除非按人体药代动力学结果或毒代动力学观察结果判断有必要，否则并不常在非临床研究中进行更多的动物药代动力学研究。动物药代动力学类型包括多剂量药代动力学研究，早期毒理学研究中的剂型改变后生物利用度的比较，新定的候选药物代谢产物分布、处置评价，食物和进食时间对吸收的程度和时间的影响，药物-药物的相互作用（如果动物模型可以预测人体中药物的行为）。

动物毒理的药物代谢实验用来评价蛋白质结合、质量平衡和组织分布，采用合适的标记化合物。如果放射性标记化合物不是不可代谢或代谢稳定，用标记化合物进行药物代谢实验或者其他研究是没有意义的，或者确定候选药物的代谢情况是没有意义的。两种最常用的临床前药物代谢研究是质量平衡，包括代谢曲线和鉴定，以及组织分布。多数组织分布研究使用常规的全身放射自显影技术。非临床药物代谢研究的进行包括多剂量组织分布（如 ICH 指导[7]中所描述的）研究，代谢特定性和评价，以及研究胎盘转移和乳汁分泌等，这些将为药物开发和生殖毒理评价提供毒代动力学方面的支持。

进行人体临床研究之前，需要完成大量的临床前毒理研究并将资料提交给注册机构。进行的毒理学研究类型和数量取决于疾病种类、治疗时间，以及进行临床实验的国家。临床前的毒理研究包括遗传毒理、局部耐受性、免疫毒性，以及急性和亚慢性实验。人体临床研究开始之后，非临床毒理学的慢性毒理、生殖毒理，以及致癌实验仍然继续进行。在解释毒理学结果时，一个最麻烦的问题是决定这些数据能否预测药物对人体的毒性。通常动物毒理实验可能与人体安全性不具有相关性，因为观察到的毒性是有物种特异性的。这种物种特异性有时候能在早期开发中发现，也可以用来设计早期人体实验，以确定是否在人体时也能出现观察到的毒性。

一项 ICH 指导原则[3]表明局部耐受性评价要用人体的给药途径来进行动物给药实验。通常在选择好发现的先导化合物后要做进一步研究，此时候选药物的遗传毒性[8,9]以及免疫毒性研究[3]就开始进行。最后的毒理研究的剂量由剂量范围研究提供，主要目标是确定最大耐受剂量（MTD）。该研究和其他毒理学研究的给药途径、频率和服用时间由候选药物期待的临床用途决定。当这些参数没有模拟人体临床实验时，会有意外的结果，这些发现的严重性可能足够停止一个很有希望的候选化合物的开发。进行人体临床研究之前，多数管理机构要求两种物种的亚慢性毒性研究，其中一个必须是非啮齿动物。ICH 指导原则[3,10]建议毒性研究最少的持续时间能够支持Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ期临床试验。管理机构[2,3]要求当人体服用候选药物超过 3 个月时，它的慢性毒理研究在两种物种上进行。亚慢性和慢性毒理研究要包括血液学、临床化学，以及组织病理学评价。发育和生殖毒理学研究用来揭示候选药物或其代谢产物对哺乳动物的生殖系统的作用，以及可能存在的人体危害性。这些研究评价雄性和雌性动物的生殖能力、胚胎发育和胎死、分娩和新生儿生长、哺乳过程、照顾幼儿行为，以及潜在的致畸性。这些所选择的研究需要成熟个体和发育的所有阶段（从受孕到性成熟到下一代受孕[11,12]）个体均暴露药物。致癌性研究包括测试物种的大多数生命周期，来测试动物体内的肿瘤诱导作用以评价在人体内的相关危险性[13~16]。这些研究正常情况下与Ⅲ期临床试验同时进行，这也是候选药物在人体用药 6 个月以上时，管理机构所要求的。

临床药物开发的外包

药物开发是一个长期、复杂、高度协调的过程，整个开发的临床试验是最耗时和昂贵的。临床开发阶段占整个开发的大约 75%的时间和超过 50%的费用。制药公司一直寻找缩短临床试验阶段的方法。然而，随着药物发现和开发的时间和花费都在增长，这些努力至今还没有成功实现。一种方法，通过 ICH 过程，协调许多临床试验任务，使得一个国家所做的研究能够为其他国家的管理机关接受。一项 ICH 指导原则[17]提供了有关临床药物开发的总体考虑的帮助。这部分说明临床药物开发，可以分为四期：

- Ⅰ期：健康志愿者或少数患者的安全性和耐受性评

价，药代动力学和药效学研究（人体药理学）。

• Ⅱ期：患者体内的有效性、剂量效应、给药方案的确定（治疗探索）。

• Ⅲ期：根据明确的患者体内的安全性和有效性来定义益处-风险关系，确定剂量-效应关系（治疗验证）。

• Ⅳ期：批准上市后的研究，根据批准的适应证，来获得益处-风险关系的更好的理解，确定更加少见的副反应（治疗用）。

对于每一期临床试验来说，支持候选药物的开发，需要有一些特征来保证研究设计是恰当的；数据都收集、评价和解释好了；结果均编写在临床研究报告中。这些特征可以规定临床试验设计、研究者和临床试验场所选择、临床试验场所监测、临床试验供给管理、数据收集和管理、数据评价和解释、报告书写、审核和注册事宜。CSO 已经成为临床试验过程中的主要角色。它们的服务范围从设计和在 CSO 处进行Ⅰ期临床试验到协调多国家的、多中心的Ⅲ期临床试验。CSO 提供的临床试验服务能够再分为两类：一类实际进行临床试验；另一类提供各种临床试验服务。表 4 列出了一些进行临床试验的 CSO，表 5 是很多 CSO 在各个领域提供的一些临床试验服务。

表 4　进行Ⅰ～Ⅳ期临床试验的 CSO

CSO	Ⅰ期		各期		
	病床[1]	支持部门[2]	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
Advanced Biomedical Research	×	×			
Anapharm	×	×			
Applied Analytical Indusrties	×	×	×		
ASTER. CEPHAC	×	×	×		
BIBRA International	×	×			
Clinical Pharmacology Associates	×	×			
Clinical Research Services Turku	×	×	×	×	×
ICSL Clinical Studies	×		×	×	×
Colorado Medical Research Center	×	×	×	×	×
Covalent Group			×	×	×
Covance	×	×	×		
CroMedica Global	×	×			
Drug Research and Analysis Corporation	×	×			
FARMOVS	×	×	×	×	
Hill Top Research			×	×	×
Inveresk Research International Limited	×	×			
Kendle	×	×	×		
LCG Bioscience	×	×			
Lovelace Respiratory Research Institute	×		×	×	
MDS	×	×	×		
Medeval Limited	×	×	×		
Northwest Kinetics	×	×	×		
PAREXEL	×		×		
Pharma Bio-Research International	×	×			
PPD, Inc.	×	×			
PharmaKinetics Laboratories	×	×			
Premier Research Worldwide	×	×			
Quintiles Transnational	×	×			
Research Testing Laboratory			×	×	×
Simbec Research	×	×			
TNO Pharma Institute	×	×			
Valorum	×	×			
West Pharmaceutical Services	×	×	×	×	×

1）Ⅰ期单位列出有床位的。

2）生物分析化学支持和药动学和特殊的人群研究。

表 5　提供各种临床试验服务支持服务的 CSO

CSO	临床各期	CTD[1]	SM[2]	DM/B[3]	RW[4]	CS[5]	A/RA[6]
Abt Associates Clinical Trials	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Advanced Biomedical Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	
Analytical Sciences	Ⅰ～Ⅳ		×	×	×		×
Anapharm	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Applied Analytical Industries	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Applied Logic Associates	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
A. R. Kamm Associates	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Beardsworth Consult. Group	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Biomedical System	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	
BZT	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Boston Biostatistics	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Cato Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Certus International	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Chiltern International	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×

Y

续表

CSO	临床各期	CTD[1]	SM[2]	DM/B[3]	RW[4]	CS[5]	A/RA[6]
Clinical Data Care	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Clinical Investigation Support	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Clinical R&D Services	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Clinical Research Services Turku	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	
Clinimetrics Research Associates	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
ClinPharm International	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
ClinTrials Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Colorado Medical Research Center	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Covalent Group	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×			×
Covance	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
CroMedica Global	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	
Drug Research and Analysis Corporation	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
FARMOVS	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Health Decisions	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
IBAH	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
ICON	Ⅱ～Ⅳ		×	×	×	×	×
ILEX Oncology	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Innovus Research	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
InSite Clinical Trials	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Integrated Research	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		
Inveresk Research International Limited	Ⅰ～Ⅲ	×	×	×	×		×
IST Studien Therapeutica	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Kendle	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
LCG Bioscience	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Lineberry Research Associates, L. L. C.	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
MDS Pharmaceutical Services	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
MEDDOC ApS	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Medical Industries Corporation	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
MEDISEARCH International	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		
MediTech International Company, Ltd.	Ⅰ～Ⅲ	×	×	×	×		×
METRONOMIA	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Mimc-International Medical Consultants	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
MTRA	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
National Institute of Clinical Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×			×
OMEGA Contract Research Organization	Ⅲ～Ⅳ	×	×	×	×		
Paragon Biomedical	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
PAREXEL	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Pharma Bioresearch Int'l.	Ⅰ～Ⅲ	×	×	×	×		×
PPD, Inc.	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Pharmaceutical Research Associates	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×			×
PharmaKinetics Laboratories	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Pharmanet	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
PharmaPart	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
PharmaResearch	Ⅰ～Ⅳ	×		×	×		×
Precision Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	
Premier Research Worldwide	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
ProTrials Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
PSI Pharma Support	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Quintiles Transnational	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×

续表

CSO	临床各期	CTD[1)]	SM[2)]	DM/B[3)]	RW[4)]	CS[5)]	A/RA[6)]
Research Services	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Research Testing Laboratories	Ⅱ～Ⅳ	×	×	×	×		×
Schiff & Company	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
SCIREX	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
SGS Biopharm – Lab Simon	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Spadille ApS	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
STATPROBE	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×		×
TOP Clinical Research	Ⅰ～Ⅳ	×	×		×		×
Valorum	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	×
Westat	Ⅰ～Ⅳ	×	×	×	×	×	

1）临床试验设计及研究者和场所选择。

2）临床试验场所监控。

3）数据管理和生物统计学。

4）报告编写和其他文档准备。

5）临床试验供应管理。

6）审核和注册事宜。

Ⅰ期临床试验包括研究中新药最初的人体给药，通常是健康的男性志愿者，因为研究目标是非治疗性的。然而，现在女性也常参与这些首次用药研究。要密切关注所有的不良反应（AE），是这些反应与候选化合物或剂量水平有关，还是不良药物反应（ADR）。一项 ICH 指导原则[18]提供了各种名词［包括 AE、ADR、严重不良反应（SAE）以及意外的 ADR］的定义。Ⅰ期临床试验最常见的是收集血样和尿样，得到人体中最基本的药代动力学信息。另外的Ⅰ期临床试验通常随后进行，解决专门的问题，如剂型变化后的相对生物利用度，食物及进食时间的影响，可能的药物-药物相互作用，亚人群的药代动力学如（老人、小孩和少数民族），在肾、肝损伤患者身上可能出现的变化。

Ⅱ期临床试验主要是研究剂量和给药频率的关系，具有特定适应证和病症的患者身上观察到的有效性和安全性的关系。正常情况下，基本以选择评价有效性为终点，然而，次级终点通常包含为更加明确的Ⅲ期临床试验监测患者建立标准。Ⅱ期临床试验通常是安慰剂对照的、双盲性，可能包括对照药物。ICH 指导原则[19]描述了许多可行的研究设计，也讨论了为了患者和适应证，每一个设计的可行性，以及获得所需信息的可行性。研究设计包括：平行剂量反应，此时患者被随机分为几个固定剂量组，评价组合治疗中阶乘平行剂量效应；交叉剂量反应，此时每个患者接受一个剂量水平，强制滴定，使得所有患者服用一系列上升剂量，或选择滴定，患者滴定一定范围的剂量，直到他们达到预测的良好或不良反应。

Ⅲ期临床试验研究是确定候选药物在患者体内的安全性和有效性的，根据需要的治疗适应证，在相对较大的患者人数，通常在多中心进行。这些研究的规模大小和时间长短使得它们和建立生产工厂一样，是药物开发最耗时间和昂贵的。因此，Ⅲ期临床试验需要很仔细地计划、执行，使得生成的结果数据库的安全性和有效性数据足以统计表明候选药物能有效调节疾病适应证，而不引起 ADR 的作用。ICH 指导原则[20]提出对于Ⅲ期临床试验研究需要表明对慢性疾病的有效治疗。仍有另一 ICH 指导原则[21]讨论了可能用于老年人的候选药物的开发方法，由于适应证是年龄性的疾病（例如阿尔茨海默病），或者适应证的人群中包含老年患者。与多数的制药公司一样，CSO 没有它们自己的必要的资源来进行多地方、多国家的Ⅲ期临床试验。

管理机构批准了候选药物的上市后，开始Ⅳ期临床试验，这时候选药物成为治疗产品。这里Ⅳ期研究需要把批准的适应证和给药方案结合起来，优化药物的使用。Ⅳ期临床试验可能包括流行病学、药物-药物相互作用以及亚人群研究。

CSO 不是所有的临床试验都能做，特别是大的、多中心、多国家的Ⅲ期临床试验和Ⅳ期药品上市后监察、药物经济学、生活质量研究。这些类型的研究可以在 CSO 公司进行，许多Ⅱ期有效性研究在研究医院或大学的附属医院进行，或者其他的研究场所进行，这里有试验需要的疾病或病症的患者。许多 CSO 提供一些服务来帮助在一个或多个试验场所的临床试验研究。这些服务可以划分为相对较宽的类别，后面将对此进行总结。

CSO 帮助顾客进行临床试验设计，成为顾客的项目组的延伸，能了解所有的数据，帮助顾客设计实际的临床试验，以确定候选药物的有效性和安全性。除了帮助顾客进行临床开发计划，准备临床试验方案，许多 CSO 也为顾客提供准备 CRF 表、研究者手册、IRB 和 IEC 应用，以及其他临床试验相关的文件等诸如此类的服务。除非一项临床试验是在预先指定的地点做，那么下一步就是选择试验场所和作为试验负责人的研究者。制药公司最终负责候选药物开发中的所有研究。然而，临床试验研究者是很重要的[22]，必须有能力承担许多责任。下一步是在某些特定方面对人员进行培训，学习方案要求。这个培训很关键，特

Y

别是当研究要采用特殊的或新的技术来评价安全性或有效性的时候。临床试验监察有助于早期发现一些困难或问题，尽量减少其出现和复发。监督临床试验的质量包括检查各方面，确定是否遵从研究方案和SOP、是否遵从GCP规则以及其他的管理机构法规、CRF产生和列出的数据以及其他临床试验文件的可接受性、是否成功达到计划的患者治疗目标、是否成功让患者参与整个试验，以及跟踪临床试验研究的供给。一项ICH指导原则[22]为各方面监察提供指导。

候选药物和其他产品的恰当管理，如对照药物和安慰剂，在很多方面与对患者的照顾和管理一样，对成功的临床试验很重要。临床试验供给需要适当的研究，生产符合GMP标准，如果可行，采用编码标记保护盲性临床试验研究[22]。外包给CSO或者其他的生产或剂型开发研究公司是很常见的。这个外包不是减轻临床试验发起者对保证临床试验供给满足临床试验适当进行的责任。

数据收集和管理过程的主要目标是提供一个保证，一个保证质量的最终的数据库，这个数据库源于用标准的方法来处理数据、验证数据、对比和修复数据输入、验证数据的准确度。不准确或错误的临床试验数据会导致原本成功的临床试验被错误地解释安全性或有效性参数。有三条ICH指导原则[18,23,24]是关于安全性数据的管理问题。对一个设计良好、进行得很好的临床试验收集的数据进行评价，可以确定目标治疗的益处-风险关系。使用候选药物的患者的疾病症状完全消失，也没有其他的副反应，使用安慰剂的患者仍然处于疾病状态，这时的评价并不难。然而，很少会是这样的情况，评价需要对收集数据的详细的统计分析。一条ICH指导原则[25]关于临床试验涉及的统计问题、减少偏差的设计技术、临床试验设计类型、进行试验的注意事项、有效性的数据分析、安全性和耐受性的评价和报告。

制药公司一直被广告、CSO手册和其他组织轰击，它们宣传着不实际的临床试验设计速度，加速临床开发的管理。这幅图画中丢了什么？将非临床和临床的发现编辑成详细的、设计良好的、可信的故事，会形成高质量的向注册机构提交的文件，以申请药品上市的授权。这需要专门的科学家和医学作者用清楚、精确的报告来分享药物开发的科学。在候选药物开发过程中发现的所有的数据和结果，不管是正面的还是负面的，都应该包括进去。一条ICH指导原则[26]提供了生成和编写临床试验研究报告的帮助，能为所有ICH区管理机构所接受。许多CSO提供科学的、医学写作服务，有些CSO认为他们的医学写作能力除了提供又一项服务外还有更深的意义。

临床试验数据的审核是独立的，是与常规临床试验监察和质量控制职责分离的。审核是质量保证的一部分，它评价临床试验管理和是否遵守研究方案、可用的SOP、GCP、GLP和GMP标准、以及适用的管理机构规章[22]。临床试验审核员是独立于临床试验的。由于临床试验审核员不能参与研究，雇佣CSO提供帮助进行临床试验的各方面研究的客户，如果与同一家CSO签订合同来审核临床试验，需要保证审核员是真正独立的。为了达到这一点，顾客要与一家CSO签订合同支持临床试验，与另一家CSO或者有资质的独立顾问来进行审核。大约80%的管理机构的批准过程集中在上市申请的临床试验部分。为保证这部分和其他部分是完整的并满足管理机构审评员的要求，大多数的制药公司成立法规事务组。这些小组通常帮助药物开发项目组和公司管理层来规定和执行管理机构在候选药物开发的各方面的策略，提出待上市国家法规问题上的建议，作为公司和注册机构主要的联系者。一些CSO提供注册事务能力。

控制、制造和化学的外包

临床试验后，药物开发过程中另一个最耗费时间和成本的方面是合成和定性药物原料和药品，即生产过程。不恰当的设计、实施和控制的生产过程可能会淘汰一个有前途的药物或活性药物成分（API），许多生产厂家用这个词，其使用频率与威胁生命的药物副作用或生物活性成分量不够的使用频率一样 。对于有效的生产一种候选药物是昂贵的，这会导致给患者的价格很高，因而除非这种药物最有效或者是治疗一种疾病的唯一药物，否则会降低市场份额及制药公司的收入。较难控制的复杂的生产工艺可能引起药物有效成分数量上和纯度上的变化，除非生产厂家能证明按此生产工艺能生产每批相同的原料，否则会影响注册机构的批准。生产工艺会经常变化以提高生产得率和纯度，为了保证工艺变化后药物是相同的，生产厂家要建立和验证分析流程，并记录说明这些变化对生产的药物原料没有影响，也未发现以前没有的杂质。

许多制药公司外包一种或多种控制、生产和化学（CMC）过程，关于此，有诸多的法规指南。外包的原因如下，但不限于以下几种：

- 避免资金投在厂房、设备和人员上；
- 避免建立和维护GMP生产设施；
- 得到额外的能力和技术；
- 得到合同者专业支持；
- 加速上市的速度。

表6列出了一些CSO向客户提供的多种CMC服务。这些服务分为生产、原料药开发、制剂研究、方法开发、稳定性研究、包装、审计等几个方面。

当科学家合成出一种有生物活性的化合物时，生产过程就开始了。这种技术通常能生产毫克到克的量，足够用于药理研究。但很少能适应大规模地对原料要求较多的制剂研究、临床前和临床研究的需要。将先导化合物确定为临床前的候选药物以后，很快生产小组开始研究将实验室合成流程放大到大规模的生产。无论药物为有机小分子还是大分子，放大到商业生产通常会进行大量的改进。在建立生产工艺，要评价以下几个项目：

- 确认合成和制剂方法，包括设备、工艺和生产规模

的确定；

- 确定和验证灌装、完成和包装的工艺；
- 确定废物处置的流程，包括合适的环境评估；
- 确定用于支持开发项目和产品上市所需的批数。

Y

表 6 提供多种 CMC 服务的 CSO

CSO	Manu[1]	RM[2]	Form[3]	MD[4]	Sta[5]	Pack[6]	Aud[7]
AAI	×		×	×	×		
Abbott Laboratories	×			×		×	
Alpharma USPD	×		×	×	×	×	
AMRESCO	×	×	×		×	×	
Atlantic Pharmaceutical Services	×	×	×	×			
Ben Venue Laboratories	×		×	×	×		
BioAnalytika Laboratories				×	×		
Boston Analytics				×	×	×	
Catalytical Pharmaceutical	×	×	×	×	×	×	×
Charles River Laboratories				×	×		
Chesapeake Biological Labs	×		×	×		×	
Chromak Research		×	×	×	×		
Circa Pharmaceutical	×	×		×	×	×	
Collaborative BioAlliance, Inc.	×	×	×				
Covance, Inc.		×		×	×	×	×
Dow Chemical Manufacturing Services	×	×	×	×	×	×	
DPT Laboratories	×		×	×	×	×	
Elemental Research		×		×	×		
Gibraltar Laboratories		×	×	×	×		
Global Pharm, Inc.	×	×		×	×	×	
Hauser, Inc.	×		×	×	×	×	×
IBAH Pharmaceutical Services	×	×		×	×	×	
IDEC Pharmaceutical Corporation	×	×		×			
International Processing Corporation	×		×	×	×	×	
J. B. Laboratories	×			×	×	×	
Kansas City Analytical Services		×		×	×		
Lancaster Laboratories		×		×	×		
Magellan Laboratories		×		×	×		
MDS Pharmaceutical Services	×	×	×	×	×	×	
Metrics, Inc.	×	×	×	×	×		
Metuchen Analytical		×		×	×		
Midwest Research Institute	×	×	×	×	×		
New Life Resources	×	×		×		×	×
Nycomed Amersham	×			×	×		
Oneida Research Services		×		×	×		
Oread	×		×	×	×	×	×
Patheon, Inc.	×	×	×	×	×	×	
Performance Solutions							×
Pharm-ECO Laboratories	×	×		×	×		×
Pharmaceutical Development Center	×	×	×	×	×	×	
Pharmaceutics International	×		×	×	×	×	
Pisgah Labs	×	×		×			
PPD, Inc.		×		×	×		
Proceutics				×	×		×
ProClinical Pharm Services	×			×	×	×	
Quantitative Technologies		×		×	×		
Quality Chemical Laboratories		×		×	×		

续表

CSO	Manu[1)]	RM[2)]	Form[3)]	MD[4)]	Sta[5)]	Pack[6)]	Aud[7)]
Ricerca	×	×		×	×		
Schwarz Pharma	×			×		×	
SGS U. S. Testing		×		×	×	×	
Sharp		×			×	×	
Shuster Laboratories		×	×	×	×		×
Southern Testing & Research Labs		×		×	×		
SP Pharmaceuticals	×		×		×	×	
SRI International	×	×	×	×	×		
STAT-A-MATRIX				×	×		×
Steifel Research Institute		×	×	×	×		
Taylor Pharmaceuticals	×	×		×	×	×	
Tetrionics, Inc.	×			×	×		
Tower Laboratories	×		×		×	×	
Vital Pharma, Inc.	×		×	×	×	×	
West Coast Analytical Services		×	×	×	×		
West Pharmaceutical Services	×			×	×	×	

1）生产，包括工艺开发和验证。
2）原材料，包括获得和测试。
3）制剂开发和质量研究。
4）药物原料和药品的方法学研究。
5）药物原料和药品的稳定性研究。
6）药品的包装服务。
7）化学、生产和工艺控制的 GMP 审查。

生产过程最重要的一个方面是记录和文件控制。生产过程的每一步，无论结果是好还是坏，都需要评价和记录，以证明生产者明白在合成、纯化、制剂和包装药品的过程中发生了什么。这些记录包括：

- 化学、生产和控制的记录；
- 合适的标准操作程序；
- 方法和工艺的验证方案；
- 方法和工艺的进展和最终报告；
- 法规文件，如每年更新的 IND 和 NDA。

对于药品的成功生产，API 合成、纯化、制剂中用到的原料是很关键的，每一个组分和中间体的供应者都应该确认和审计，通常有一个仔细的实地考察。所需的原料量、时间和费用要签协议，以保证关键的成分在需要时能够得到。另外一个重要的项目是确定每个原料的有效期，以保证从购买开始到使用时不至于失效。

一旦选定候选药物，即开展制剂活动，以开发一个合适的剂型用于动物和人。依据给药途径的不同，剂型可以是溶液剂、悬浮剂、气雾剂、膏剂或固体制剂。因为处方成分可能会影响候选药物的输送，有时会起到阻碍作用，因此希望临床前的处方相似或接近临床处方。所以，在开发过程中处方前研究要尽早进行。制剂过程通常贯穿整个开发过程，进行改进以提高药物的稳定性，改善体内输送，掩盖药物味道和改善药物的外观。若处方变化程度很大，有可能要进行额外的非临床和临床研究，以确定改变的处方是否和原来的处方具有相同的性质，如果不是，差距的性质和程度有多大。

分析化学方法用于研究药物成分和药品的化学性质，包括定性检测其结构、纯度、降解产物和污染物[27~29]，定性取决于仔细研究和验证的分析化学方法。它可能包括美国药典方法，如残留溶剂、水分，灼烧残渣、量热测定，及候选药物特定的方法，如鉴别、浓度、杂质、溶解度和在各种温度和条件下的稳定性。对于蛋白质和多肽，还要进行更多的定性。关于定性和讨论稳定性试验，已经颁布了几个 ICH 指南[30~37]，包括光稳定性、杂质、残留溶剂、检测过程和接受标准[33,34]。定量的分析化学方法提供有关药物成分浓度、杂质含量、稳定性等方面的信息。验证化学分析方法的 ICH 指南[35,36]描述了用实验验证和设置可接受的标准，包括特异性、检测限、定量限、线性范围、精密度、准确度和可靠性。每一个要分析的样品的分析方法均需要进行验证。

稳定性试验确定药物成分或药品在不同的条件（如温度、湿度、光照、储存条件和有效期）下是怎样随时间而变化的，许多 ICH 指南[30,32,37]描述和讨论了稳定性问题，以及对 NCE 和大分子的测试要求。这些指南给生产厂家和 CSO 提供了有关加速研究和长期稳定性研究的可接受标准。除了药物成分和药品，稳定性评价还常用于原材料、关键中间体、制剂辅料和包装材料。

药品制备好后，下一步是包装和贴标签。包装要求取

决于最终药品（固体制剂、混悬剂和液体）和临床适应证（医院、医生办公室和家用）。对于注射用液体制剂，药品的灭菌很重要，必须采用无菌灌装。对其他剂型，为将药品装进所要求的包装，可能需要一些专门的设备。药品与包装材料的相容性也需要评价，如安瓿、内部涂膜和胶塞系统。对于正确地使用药品，合适的标签和装入包装的信息也很重要。标签和包装插页为医生、药师和患者提供以下信息：

- 药物、药品和制剂辅料；
- 临床药理和药物的生理活性；
- 已批准的适应证的用途；
- 不应使用药品的禁忌证；
- 使用药品的警告和预防；
- 报道的与药物相关的副反应；
- 药物过量的后果和相应措施；
- 药品的剂量和服用方法；
- 药物的规格和储存条件。

审查是为了保证生产厂商，无论是制药公司还是 CSO，有适当确定和记录的工艺和方法来进行药物和药品的生产，并有必要的人员和设施进行生产和控制生产过程，确定是否遵守了 GMP 规定。与临床试验一样，制药公司的开发者对药物和药品的生产负责，无论这些活动发生在本公司还是外包的。审查，不管是由法规机构还是由开发者进行，要确保过程受控并符合 GMP 规定。审查中发现的问题通常能解决，为了防止法规机构发现这些担心的问题，制药公司由内部的 QA 或与 CSO 签约，或由独立的顾问进行药物开发的 CMC 方面的 GMP 审查。与临床试验中的审查作用一样，审查者应独立于被审查的过程，有时客户将生产的 CSO 的 GMP 审查外包给另一个 CSO 进行。

虚拟药物开发组织和顾问

在药物研究领域另一个较新的角色是虚拟药物开发组织（Virtual Drug Development Organization，VDO），与 CSO 一样，在将发现的新想法开发治疗产品的过程中，给制药公司提供支持。但是 VDO 不提供实验室服务，而是给客户提供药物发现和开发过程中各种活动的协调，以确定一个候选药物或生产足够量的化合物供非临床、临床和上市的研究。这个协调工作通过设计和外包研究工作到 CSO，并汇编研究结果进入注册程序。VDO 以两种方式中的一种运作：一种是与制药客户签合同，并作为客户项目的延伸部分服务；另一种是从制药公司或大学技术转移组得到候选药物授权。两种情况下，VDO 与 CSO 紧密交流。制药公司采用与选择和监察 CSO 相同的技术和要求评价 VDO。

很多年来，药物开发顾问支持制药工业，并在药物的发现和开发过程的许多方面提出了很多专业的建议。这些建议包括协助选择和监督 CSO，解释外包研究结果。制药公司选择顾问有各种各样的方法，最常见的是“好的老男孩”网络，在这个网络中制药公司执行官知道或者有一个朋友知道，某人现在是一个顾问，他们通常是一个退休的药企执行官、一个前注册审查员，或者大学里里药理学教授。这就是鉴别一个专家的最佳方法吗？如果公司想要一个在特定领域，如药物代谢和药品稳定性方面有丰富知识和经验的专家，这可能不是。上面列出的选择一个 CSO 的技术很可能在最重要的某些方面，也适用于评价一个顾问是否在研究领域具有丰富经验，是否为人正直以及是否具有很好的沟通技巧。选择一个毒理学或临床药理学的顾问来帮助评价人体药动学的结果，可能会阻止这些数据被有效地用来设计另外的非临床毒理学和临床试验研究。

发展趋势

在制药工业，在药物的发现和开发过程中，已经发生或正在发生很大的变化。这些变化使得 CSO 为药物开发所提供的支持服务的方式发生了很多改变。将来会有什么变化出现？有更多的变化将要发生吗？如果这样，它们会是什么？它们将怎样影响制药公司和他们的服务提供者？尽管预测未来通常不是十分准确，经常会误导，但从最近的一些事件来看，一些趋势将来可能会发生。

对制药公司，目前的趋势有：

- 合并和收购可能会产生一些超大型的制药公司，原因包括想要更全面地全球化，用以前建立的研究队伍和药物开发渠道进入医疗领域，从而得到新技术以加速药物发现和开发。与中小型公司相比，是否这些大公司主要的药品更有机会获准上市还是未知的。
- 许多新公司，主要是生物技术公司，希望将一些新想法变成药品的形势将会出现，这些公司的资金运转将比较困难，资金主要来源于风险资金和政府基金，这些资金不足以完成整个药物的研究过程，大部分这些起步的公司想将他们的发现授权或卖给制药公司或 VDO 以获得急需的资金和专利费。这些小公司将对药物开发进行独自研究，以决定他们会为他们的发现收多少钱。相当数量的公司，几乎与新成立的公司数量一样多，当他们的研究不能产生具有成药性的候选药物时，都会出局、被合并或被收购。
- ICH 进程将会给世界范围的候选药物研究提供更多的标准要求。全球的上市申请要符合大部分注册机构的要求，包括非临床、临床、生产等方面的限定和认可。
- 即使最努力的药物研究者也不能降低药物发现和开发所花费的时间和资金，然而随着新化合物的发现、开发分析技术的到位、ICH 进程更完全地执行，费用和时间不会像过去那样迅速增加。

对 CSO 和其他一些支持组织，以前注意到的趋势只会提供机会，CSO 的前景会非常光明，CSO 现在积累资本，将来满足客户的需求，将会非常成功，CSO 工业的趋势如下：

- 制药公司将增加他们的外包投入。
- 药物发现和潜在药物开发分析服务将会高速增长，因为这些领域目前是瓶颈，情况还没有变好。

Y

· 只提供非临床药物研究服务的CSO将会加强他们吸引和保持客户的能力。

· 临床CSO将会有更多的研究，超过他们有效支持的能力，极有可能扩展并满足客户需要。

· 能在临床试验的许多方面提供服务，有世界范围服务的临床CSO将会成长和成功。

· 许多大型的CSO，如Quintiles和MDS将会合并，很可能成为在药物发现和开发领域为客户提供许多，但不是全部服务的大型CSO。一些大型的CSO可能希望成为制药企业，并用他们的专业知识发现和开发新化合物，这些化合物通过他们的努力或授权得到。

· CSO领域不会被大型CSO主宰，制药公司现在的经历和将来的瓶颈将会导致出现更多的CSO，而不是更少。这些新CSO将会在药物发现和潜在的开发分析方面提供给客户更专业的服务，同时评价多个发现的先导化合物。

· 随着制药公司的合并和不断的“合理精简”，CSO将会变成一个真正的合作者而不仅是完成任务的一双手。客户将会与服务提供者分享更多的正面的或反面的科学信息。反过来，服务提供者会为了有效地合作和双方受益，而学习更多的完整的药物发现和开发方法。

· CSO将是新毕业生和从制药公司精减下来的各学科人员的主要工作去向。这些新的毕业生将带来最新的科学技术，有助于为客户提供更广泛的新服务，这些年轻的有上进心的员工会从以前制药公司员工那里学到更多的药物开发应用科学知识。

以上或所有潜在的趋势是否会在将来发生还无法肯定，但有一件事情是可以确定的，变化一定会发生。拥抱变化，适应新思想和方法以改进或缩短药物发现和开发的过程，这样的制药公司及其合作者CSO将会成功。那些不能或不愿适应变化的公司更可能成为回忆。但即使一个坏的回忆也能提供指导，用于改进发现新药的过程，来治疗目前只有边缘疗法或无有效治疗手段的人类疾病。

参考文献

1. Drug Metabolism/Drug Interaction Studies in the Drug Development Process. Studies In Vitro; US FDA: FDA Guidance for Industry: Washington, DC, 1997.
2. U.S. FDA's Proposed Implementation of ICH Safety Working Group Consensus Regarding New Drug Applications. Federal Register 1992, 57 (73), 13105—13106.
3. Non-Clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals; ICH Harmonized Tripartite Guideline (M3); 1997.
4. Karnes, H. T.; Shiu, G.; Shah, V. P. Validation of Bioanalytical Methods, Pharm. Res. 1991, 8 (4), 421—426.
5. Shah, V. P.; Midha, K. K.; Dighe, S.; McGilveray, I. J.; Skelly, J. P.; Yacobi, A.; Layloff, T.; Viswanathan, C. T.; Cook, C. E.; McDowall, R. D.; Pittman, K. A.; Spector, S. Analytical Methods Validation, Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies. Pharm. Res. 1992, 9 (4), 588—592.
6. Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S3A); 1994.
7. Pharmacokinetics: Guidance for Repeated Dose Tissue Distribution Studies, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S3B); 1994.
8. Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S2A); 1995.
9. Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S2B); 1997.
10. Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing), ICH Harmonized Tripartite Guideline (S4A); 1998.
11. Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S5A); 1993.
12. Toxicity to Male Fertility: An Addendum to the ICH Tripartite Guideline on Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S5B); 1995.
13. Guidelines on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S1A); 1995.
14. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S1B); 1997.
15. Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S1C); 1994.
16. Addendum to Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals: Addition of a Limit Dose and Related Notes, ICH Harmonized Tripartite Guideline (S1CR); 1997.
17. General Considerations for Clinical Trials, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E8); 1997.
18. Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E2A); 1994.
19. Dose-Response Information to Support Drug Registration, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E4); 1994.
20. The Extent of Population Exposure to Assess Clinical Safety for Drug Intended for Long-Term Treatment of Non-Life-Threatening Conditions, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E1); 1994.
21. Studies in Support of Special Populations: Geriatrics, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E7); 1993.

22. Guideline for Good Clinical Practice, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E6); 1996.
23. Data Elements for Transmission of Individual Case Safety Reports, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E2B); 1997.
24. Clinical Safety Data Management: Periodic Safety Update Reports for Marketed Drugs, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E2C); 1996.
25. Statistical Principles for Clinical Trials, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E9); 1998.
26. Structure and Content of Clinical Study Reports, ICH Harmonized Tripartite Guideline (E3); 1995.
27. Impurities in New Drug Substances, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q3A); 1995.
28. Impurities in New Drug Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q3B); 1996.
29. Impurities: Guideline for Residual Solvents, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q3C); 1997.
30. Stability Testing of New Drug Substances and Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q1A); 1993.
31. Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q1B); 1996.
32. Stability Testing: Requirements for New Dosage Forms, Annex to the ICH Harmonized Tripartite Guideline on Stability Testing for New Drugs and Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q1C); 1996.
33. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q6A); 1997.
34. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnology/Biological Products, ICH Draft Consensus Guideline (Q6B); 1998.
35. Text on Validation of Analytical Procedures, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q2A); 1994.
36. Validation of Analytical Procedures: Methodology, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q2B); 1996.
37. Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products, ICH Harmonized Tripartite Guideline (Q5C); 1995.
38. Corporate Capabilities. Bio. Pharm 1999, 12 (12), 1—76.
39. The 2000 CSO Directory. Drug Information Association 2000, 1—237.
40. 2000 Corporate Capabilities, LC-GC; North America 2000, 1—138.
41. GENDirectory to Contract Research Organizations, Genetic Engineering News Directory to Biotechnology Companies.
42. 1999/2000 Buying Guide. Pharm. Process. 1999, 16 (6), 1—224.
43. Larka Directory of Contract Pharmaceutical Manufacturers (CPMs) Europe, Larka Directory of Contract Research Organization (CROs) Europe. Larka Pharmaceutical Publications.
44. The Directory of Contract Services; Vol. I. Dosage Form Manufacturing, Formulation, Packaging and Analytical Services; Vol. II., Biologics API Manufacturing and Process Development; PharmSource Information Services, Inc.
45. The Technomark Registers 2000; Vol. 1. CROs in Europe Offering Clinical Research Services, Data Management & Regulatory Affairs; Vol. 2. CROs in Europe Offering Preclinical, Toxicology & Analytical Services; Vol. 3. CPMs in Europe Offering Packaging & Manufacturing Services; Vol. 4. North American CROs & CPMs.
46. Lakings, D. B. Biological CROs: Enhancing the Opportunity for a Successful Drug Discovery and Development Program. D&MD Reports, 1999; 1-1-10-348.
47. New Drug Approval Process, The Global Challenge. Drugs and the Pharmaceutical Sciences, 3rd Ed.; Guarino, R. A., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000; 1—463.

（周玉波　刘笑芬　译）

Y

药物的吸收

Peter G. Welling
University of Strathclyde, Glasgow, Scotland

引言

原著第一版中吸收章节涵盖了吸收的经典范畴，讨论了细胞膜、肠道外和肠道吸收、临床影响因素以及吸收的药物动力学特征。

从原著第一版到第二版期间，这些领域发生了许多变化，有些变化尤为突出。原著第二版重点强调了这些改变，特别反映了快速发展的膜渗透领域的发展和发现、各种不同给药途径的开发、剂型因素以及吸收促进剂。本章为了留出更多空间，把药物吸收的药物动力学处置略去。

药物吸收的目的

吸收可以定义为一种化合物透过一层或多层细胞膜进入体内的过程。吸收不能混同于生物利用度，生物利用度是所给化合物进入体内循环的程度。对于某些药物和给药途径，如静脉注射后，吸收与生物利用度可以等同。不过，大多数情况下是不同的。一种药物在给药部位吸收后到进入体循环之前未被代谢，则吸收和生物利用度可能是一致的。所有被吸收的药物都进入体循环，这就不考虑药物被降解或其他改变，如吸收前改变。

另外，从给药部位吸收之后到进入体循环之前有降解的药物，其系统利用度，即生物利用度将低于吸收量。经过肝首过清除的口服药，尽管能够有效地经过胃肠道吸收进入内脏循环，但生物利用度仍然很差。

具有全身活性药物的药理作用取决于该药的内在活性和体循环中的药物浓度。起效速度、作用强度及持续时间都取决于药物浓度分布特征。

药物起效速度取决于药物的吸收速度。极端的例子是快速静脉注射，立即起效，并且达到最大药理作用，然后缓慢降低疗效，而口服给药，则是慢慢达到治疗作用。

药理作用强度通常取决于药物在循环中的浓度。实际上，药物动力学/药效动力学关系通常很复杂，但是，一般说来，循环中药物浓度越高，产生的药理作用越强。

循环中药物达到的水平取决于剂量、吸收率、整体生物利用度、分布以及清除率。分布容积主要取决于药物亲脂性，脂溶性高，则易于穿过生物膜，进入血管外环境，特别是进入脂肪组织和中枢神经系统。

许多药物能够与血浆蛋白结合，特别是血浆白蛋白。尽管药物与血浆蛋白的结合实际上是动态的和可逆的，但是在特定时间内药物与蛋白结合受血容量的限制，无法参与血管外分布。

最后一个影响循环药物水平的因素是清除率。无论是由于代谢还是其他过程（如消除半衰期缩短）引起的，药物从血循环消除越快，血药浓度就越低。清除快的很难比清除慢的药物血药水平更高。通过多次给药也不太可能使高清除的药物得以蓄积。

因此，药物吸收尽管是一个非常重要的影响循环中血药浓度的因素，但也仅仅是诸多因素之一。概括一个药物全貌，特别是预测药物特性以前，全面了解这些影响因素，尤其是了解药动-药效关系是非常重要的。

以上所有因素都是药物理化特性的函数。药物的分布和清除只受药物特性影响，除了某些相互作用，一般不会改变；药物吸收一般受给药途径、剂型和合并用药因素的显著影响。近 20 年，药剂学研究的一些主要驱动力就是致力于后者的研究。

给药途径

期望的药物吸收可以通过多种给药途径来实现。给药途径可分为肠道外和肠道内。由于不同给药系统在各种不同给药途径中的重要作用，因此，近年来依靠不同给药系统，优选最佳给药途径发展迅速，现就此做简要综述。

肠道外给药途径

肠道外给药途径不能提高药物吸收入内脏血循环的量。不过有可能避免肝首过代谢。应该注意，某些肠道外给药途径不能避免其他首过代谢作用（例如，某些药物有肺首过代谢）。一些主要的肠道外给药途径有动脉内、髓鞘内、静脉内、肌肉、透皮、鼻腔内、口腔、吸入、腹腔内、阴道和直肠。

1. 动脉内直接给药

动脉内注射可用于组织器官直接给药。例如，癌症化疗时，使用加压素治疗胃肠道出血；动脉内注射卡莫司汀可有效治疗脑肿瘤[1]；骨盆动脉直接注射放线菌素 D 可用于治疗恶性绒毛膜上皮疾病[2]。

动脉内给药存在潜在的安全隐患。已有报道栓塞、动脉闭合以及局部给药的毒性。

2. 髓鞘内给药

对于不能通过血脑屏障的药物，直接注射入脑脊液内能够确保药物完全进入中枢神经系统。该给药途径通常用于治疗严重的中枢神经系统感染，如脑膜炎和脑室炎，还

有某些药物如卡波卡因和丙胺卡因注射用于椎麻。药物直接注射入髓鞘内可以迅速分布到约 140mL 的脑脊液中，在中枢神经系统中产生较高浓度，同时产生较低的全身毒性。

3. 静脉内给药

静脉注射药物可直接进入静脉循环。血循环中药物浓度取决于注射的药物的量、注射速度和注射持续时间。静脉注射立即产生治疗作用，典型的例子如用于治疗全身麻醉和治疗心律失常。静脉注射剂量，通常由该化合物在研发阶段的临床前试验决定，同时也是确定其他给药途径绝对生物利用度的标准。

4. 肌肉给药

肌内注射给药后，药物必须透过一层或多层生物膜才能达到体循环。肌内注射主要用于口服不吸收的药物和疫苗，如氨基糖苷类抗生素、胰岛素和肝炎疫苗。肌肉内给药途径通常用于长效治疗，需要特殊基质，如水混悬剂、油剂、络合物和微囊。通过肌肉给药可以达到缓释的目的[3]。

5. 透皮给药

自从东莨菪碱采用透皮给药后[4]，许多药物开发成透皮给药系统用于全身治疗。该给药系统主要优点是可以在特定时间内连续释放药物，进入体循环前清除极低，易于除去，使用方便，依从性好。

其缺点是由于皮肤具有屏障作用而引起皮肤反应。一般还要求相对较大的剂量。透皮给药只适应于相对剂量小的药物（<10mg）以及透皮作用较强的药物。现在已开发成透皮给药系统的药物有可乐定、雌二醇、尼古丁、硝酸甘油和东莨菪碱等。

6. 鼻腔内给药

鼻腔内给药可以产生局部或全身作用。局部作用用于治疗鼻过敏、鼻炎和鼻充血。鼻腔内给药用于全身治疗只有少数几种药物已开发成功，多数药物尚处于试验阶段。

呼吸道和鼻腔黏膜不仅结构复杂而且功能特殊，加之鼻腔内给药面积较小，这些都限制了该给药系统的开发。还要考虑药物如何长期停留在完整的鼻黏膜上。要解决这个问题，可能需要表面活性剂帮助达到良好的穿透作用。

除了这些影响因素，药物的理化性质对鼻腔吸收的影响与其他给药途径一样。药物必须溶解在鼻黏液内，而且必须有一定的脂溶性以便于透过鼻腔上皮细胞。鼻腔吸收要通过鼻黏膜的小静脉和毛细血管。

已开发出许多鼻腔给药的不同给药系统，如滴剂、气雾剂、喷雾剂和可溶性基质制剂等[5]。

鼻腔内给药可能是小分子多肽的理想给药方式。加压素类似物和催产素已成功开发成鼻腔内给药制剂。促甲状腺释放激素激动剂和拮抗剂、其他加压素类似物、肽类也在研究之中。性激素鼻腔黏膜给药在动物实验中已取得较好效果。胰岛素鼻腔给药也在研究中，不过仅取得了一定成功。

7. 口腔内给药

以前提到的口腔颊膜给药和舌下给药吸收，主要是使用硝酸甘油来治疗严重的头痛和缓解心绞痛。

药物可以从口腔黏膜或舌下吸收。该途径吸收较其他途径更为迅速，因为舌下黏膜通透性更高，血供更丰富。唾液 pH 约 6，因此中性药物主要是被动吸收，酸性药物 pK_a>3、碱性药物 pK_a<9 和分子状态的药物更易吸收。

目前已用于或认为可用于口腔或舌下给药的药物主要包括有机硝酸酯类、巴比妥类、罂粟碱、胰蛋白酶、氯丙嗪、苯二氮䓬类、丁丙诺啡、卡托普利、异丙肾上腺素、催产素和硝苯地平。催产素是目前唯一已成功开发为舌下制剂的多肽。类固醇舌下制剂的研究也取得了一定成功。

8. 吸入给药

吸入给药时，药物接触到口腔或鼻、咽、气管、支气管、细支气管、肺总管和肺泡等的黏膜（图 1）。肺潜在的吸收面积达 70m²，比小肠的表面积还大。不过，肺部和呼吸道的结构不利于药物达到吸收率较高的肺末梢。该系统有特定的结构，如果药物可以达到肺末梢组织，吸收率将非常高。

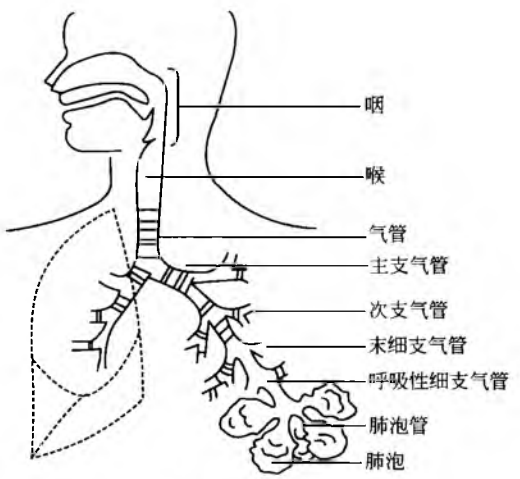


图 1 人体呼吸道

颗粒（液滴）大小和给药速度可控制药物透过气管的程度。能够到达下部气管的最佳颗粒大小为 3～5μm，大颗粒易储留在上呼吸道。

大多数吸入制剂给药装置释放药量的约 10%达到下呼吸道。一些装置已将肺部释放量提高到约 21%（据报道是使用一种压力控制的吸入器）[6]。尽管有了许多改进，经肺部给药效率仍然很低。

吸入制剂的全身给药，其生物利用度受肺代谢首过影响。肺部含多种药酶，包括混合功能氧化酶、单胺氧化酶和酯酶。

用于吸入制剂研究的动物模型主要有大鼠、家兔和犬。

Y

9. 腹腔内给药

腹腔内给药不常见，主要用于临床前药物研发阶段。临床一般仅用于腹腔肿瘤化疗。

接受连续门诊腹膜透析的肾功能障碍患者，经常发生腹膜炎。腹膜炎常伴有全身感染，因此，抗生素需要在腹腔和体循环中都达到治疗水平。

口服或注射给药可在体循环达到足够药物治疗浓度，同时也希望腹腔能够达到足够治疗浓度。直接腹腔内注射也是一种备选给药途径，通过腹膜吸收体循环也能达到足够药物浓度[7]。据我们所知，这种给药途径相对优势尚不明确。

10. 阴道内给药

人类阴道长度为 10～15cm，是一个纤维性肌肉管道器官，从外阴到宫颈下端，向上后方延伸。阴道血供来自子宫和阴道动脉，有丰富的静脉丛，流向髂内静脉。阴道上皮表面由于子宫颈分泌的黏液而保持润滑，pH 为 4～5。

阴道给药主要用于局部作用，但是阴道吸收可以快速而有效地达到全身给药。良好的全身吸收能力和阴道留置给药装置导致出现了许多阴道给药剂型，特别是类固醇类避孕药。还出现了一些阴道控释制剂，包括阴道环和生物可降解性微球。

11. 直肠给药

人类直肠长为 15～20cm。直肠正常是空的，含 2～3mL pH 7～8 的黏液。直肠没有绒毛，可吸收表面积为 200～400cm^2。

直肠黏膜下血管和淋巴管丰富。直肠上静脉汇入门静脉循环，而直肠中静脉和直肠下静脉直接汇入下腔静脉。不过，这些静脉间有许多吻合支，因此精确的解剖学意义上的区分很困难。显然，药物经直肠下静脉吸收相对于直肠上静脉吸收更容易避开肝首过代谢。

直肠吸收通常比口服吸收缓慢，不过对于某些药物，直肠吸收优于口服吸收，因为直肠吸收可避免肝首过代谢。已有报道直肠给药的药物有吗啡、甲氧氯普胺、麦角胺、利多卡因和普萘洛尔。对于能被广泛代谢的利多卡因，人直肠给药生物利用度可达 65%，而口服仅 30%[8]。

水溶液或乙醇溶液型药物的直肠吸收通常比混悬剂快。非表面活性辅料例如水杨酸盐可以促进水溶性药物吸收，也能促进大分子药物如胰岛素、肝素和胃泌素的吸收。

肠道给药途径

药物肠道吸收途径包括胃、小肠和大肠。药物从这些途径吸收后进入内脏循环，经肝脏然后进入体循环。

胃肠道是大部分营养物质的吸收部位。因此，胃肠道非常有利于药物吸收。胃的蠕动作用、酶和盐酸的分泌、小肠的绒毛和微绒毛，还有该部位丰富的血供和淋巴循环都有利于吸收。一般来说，胃肠道吸收是药物最有效的给药途径，只要可能，药物尽量选择该途径给药。

根据化合物和患者情况不同，任何口服化合物都处于既有利又不利的吸收环境中。下面简要综述一下与药物吸收相关的胃肠道的结构和生理。

1. 胃肠道生理

图 2 显示的是胃肠道不同位置的 pH。从口腔的微酸环境，进入胃中酸性环境。胃中酸性是胃壁细胞持续分泌盐酸引起的。盐酸能够促进胃蛋白酶的酶原转化为有活性的蛋白酶，对食物消化有重要作用。

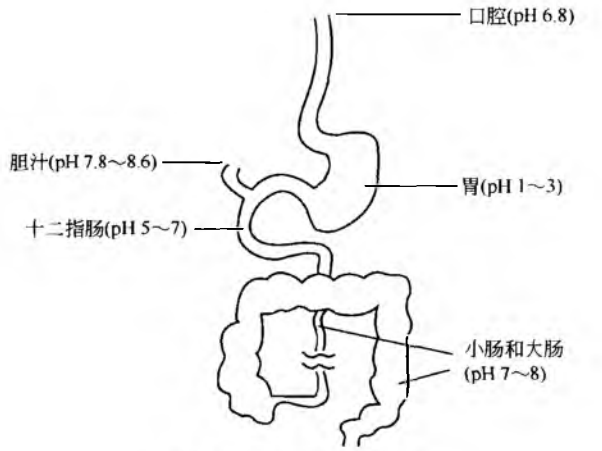


图 2 人胃肠道近似的 pH

胃内酸性环境有利于胃吸收溶解在胃液中的酸性药物。另外，碱性药物易溶解在胃中，但是却不利于吸收，因为碱性药物被离子化，从而没有足够的脂溶性以便有效通过生物膜。胃中酸性环境还易引起酸水解作用，从而降低药物吸收。

药物如能溶解在胃中或药物是液体的，并有一定脂溶性和酸稳定性，则胃吸收效率可能较高。乙醇是一种能和水互溶，且有一定脂溶性的液体，易通过生物膜。因此，乙醇能在胃内有效吸收。

药物经过幽门括约肌，进入十二指肠、空肠和回肠。小肠的这些部位与胃中 pH、消化酶、吸收表面积均不相同。分泌的碱性胆汁进入十二指肠，提高了十二指肠的 pH，远端肠内容物 pH 可达 5～7。pH 从酸性到基本上中性引起的各种改变影响药物吸收。胃液不能渗透的肠溶包衣将在此溶解，酸性药物溶解更快，而 pH 并未升高到抑制弱碱性药物溶解或沉淀的程度。

2. 胃肠道的结构和运动

胃是一个囊状器官，表面相对平滑。尽管胃能吸收物质，但对于整个胃肠道吸收来说胃的贡献是有限的。近端小肠的吸收优于胃和肠道其他任何部位。药物从胃进入小肠的速度是吸收的一个限速步骤。胃的运动很复杂，受神经和激素调节。胃排空速率与节率性收缩有关，禁食时，

大约每分钟收缩3次，当食物进入胃时收缩频率更小。

由于这些节率性收缩，食物从胃进入十二指肠。肉食比例越大、脂肪含量越丰富，每餐消化的时间就越长。任何药物都必须随食物消化而后进入小肠。任何药物或食物只有在胃消化成适宜的程度，才能够进入近端小肠，这个过程是一种保护机制，能避免小肠精巧的吸收表面受到损伤。

液体食物能促进胃排空，固体则延缓排空。促进作用是由于激活胃壁上的牵张感受器而产生的。当流体是水时，抑制性感受器激活停止，结果胃内容物加速排空，进入十二指肠。近端小肠和胃非常重要的不同之处是上皮黏膜表面性质。小肠黏膜表面具有手指样结构或称是绒毛样结构，大大提高了环状壁表面积，相应地，微绒毛又大大地增加了绒毛的表面积。这些内陷结构把小肠黏膜表面积增加了约600倍，达到约200m^2，每分钟有1.0～1.5L血液流经小肠毛细血管网。然而，胃黏膜表面积仅100m^2，血流速度约150mL/min。这样，小肠表面积是胃的2倍，血流速度是胃的6～10倍。这些因素有力地支持了小肠的高效吸收。

小肠的绒毛和微绒毛表面排列着黏蛋白硫酸盐——糖蛋白。糖蛋白是不流动的、连续的薄层，被搅动时可向前移动，一直延伸到小肠腔中，能吸附液体。该连续不流动层的有效厚度为0.01～1.0mm。

相对分子质量小于450的分子，在不流动层的扩散速率反比于相对分子质量的平方根；相对分子质量大于450的分子反比于相对分子质量的立方根。糖蛋白带负电荷，与不流动层所带电荷相反。如果这些阳离子是由氢离子组成的（通常如此），则上皮刷毛侧微环境相对于肠腔是酸性的。这可能影响药物在膜表面的离子化，并在胃肠道黏膜表面形成一个酸性微环境。

药物在小肠各段驻留时间分别是：十二指肠约5min，空肠约2h，回肠为3～6h。然后进入大肠。

大肠黏膜表面没有绒毛或微绒毛。它的内容物为中性或碱性，因此，药物在大肠比在小肠吸收效率低。大肠和结肠存在许多有活性的微生物群，可以降解外来分子，因此可能降低该部分胃肠道的药物吸收。

3. 胃肠道分泌

胃分泌酸的速度由胃壁细胞控制。乙酰胆碱、组胺和胃泌素对调节盐酸分泌有重要作用，它们能够直接作用于胃壁细胞，提高胃酸分泌速度。

3.1 胃酸分泌时相

盐酸分泌基础速度有昼夜变化，晚上分泌最高，而早上分泌最少。每餐摄入食物后，胃酸分泌速度升高。食物引起的胃酸分泌升高有三个时相，分别是头相（食物到达胃之前）、胃相（食物在胃中激活）、肠相（食物输入十二指肠和上空肠激活）。

3.2 头相

食物的色、香、味激活该相。该相胃酸分泌量相当于最大分泌速率的40%。除胃内食物刺激外，大脑受到的其他刺激，通过刺激迷走神经而促进胃酸分泌。

3.3 胃相

胃内食物刺激胃分泌。主要刺激包括胃张力刺激以及氨基酸和肽类的刺激。胃膨胀张力刺激机械性刺激感受器，从而引起乙酰胆碱、盐酸和胃泌素的分泌。

3.4 肠相

十二指肠中的食糜刺激神经和内分泌兴奋反应，随后抑制胃酸分泌入胃。当胃食糜pH大于3时，兴奋起主导作用。不过，当缓冲能力耗尽和pH低于2时，抑制作用起支配作用。

胃酸分泌受几种脑神经肽调节，一些起兴奋作用，另一些则起抑制作用。

4. 胃液

胃液包括表层上皮细胞和胃腺分泌的混合液。盐分、水、胃蛋白酶、内源性因子和黏液是胃液的主要成分。餐后胃分泌升高。胃液的离子组成与胃液分泌速度有关。分泌速度越快，氢离子浓度越高。胃酸的分泌速度存在个体差异。人的基础分泌速度是1～5mEq/h。组胺或五肽胃泌素刺激后，酸分泌速度能升高到5～40mEq/h。

5. 其他分泌

胆汁，pH为7.8～8.6，人的胆汁是连续生成的。两餐之间，肝胆汁聚积并储存于胆囊中。食物进入小肠后，胆汁从胆囊中流出，流入十二指肠。胆汁的主要成分是胆盐、胆红素、血红蛋白降解的终产物、电解质盐、氯化物、碳酸氢盐、胆固醇、磷脂和蛋黄素。进食后30min内，胆囊素释放使胆囊收缩。最有效的刺激是食物中的高脂成分。

胆盐，具有表面活性作用，能够促进脂溶性药物和脂溶性药物制剂、肠溶衣、蜡状药物基质溶出。胆盐也能促进亲脂性分子以胶团和溶解形式穿透生物膜。

胰液，含有碱性液体和酶，两者都可排至十二指肠。碱性液体可以中和胃排入的酸。酶包括溶粒酶、脂酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶，在消化碳水化合物、脂肪和蛋白质时起重要作用。胰蛋白酶和糜蛋白酶以非活性酶原形式分泌，要经过激活才能转化为有活性的酶形式。

由于蛋白质水解酶分泌入十二指肠，蛋白质或肽类药物，如促皮质激素、加压素、胰岛素很快降解，一般不能口服。胰腺分泌受激素和神经双重调控。

肠不存在胃液、胰液或胆汁分泌。不过，大量流质都流过小肠。小肠黏膜的任何分泌都有明显的润滑和保护作用。

6. 药物吸收相关的胃肠道血流

药物可从胃肠道浆膜侧以其中一种或两种机制转运。

Y

胃肠道有来自内脏循环系统提供的丰富的毛细血管网。药物也可由胃肠道上皮的淋巴管吸收而进入淋巴系统，经灌溉腹部的淋巴系统到达胸淋巴管。经淋巴系统吸收直接入体循环的药物可不受肝首过代谢。尽管存在血液循环和淋巴循环双重循环系统，但是大部分药物主要通过与内脏循环相连的毛细血管循环系统吸收。

出现这种结果的主要原因是由于血流和淋巴的相对流速。内脏循环系统血流速度是 1.0～1.5L/min，约占心脏输出量的 30%。进餐后血流速度可升高到 2L/min。淋巴液流经相同区域的速度仅 1～2mL/min，进餐后可以提高到 5～20mL/min。该区域淋巴液流速比血流慢 500～700 倍。相对而言，快速的内脏血液在胃肠道上皮浆膜侧形成漏槽状态，从而确保很大浓度梯度。这些都使得血流比淋巴液吸收效率更高。

只有少量药物经淋巴系统吸收。这些药物包括不能进入毛细血管的大分子和一些特殊分子如甾固醇类。

7. 肝首过代谢

大部分经胃和肠吸收的化合物进入内脏循环。经过门静脉入肝，然后进入体循环。经该途径吸收的药物必须经过肝脏，相对于其后要分布的体循环或其他地方，肝中浓度较高。

肝代谢通常是一级动力学，因此肝中高效代谢明显的药物大部分由于首过效应而被清除。药物可能经胃肠道吸收很好，但由于肝首过清除到达体循环利用的非常少。像这样高清除的药物有醋丁洛尔、阿普洛尔、地昔帕明、异丙肾上腺素和利多卡因。

吸收机制

口服药物必须经过数层生物膜才能被吸收进入体循环。各种生物膜结构和功能各异。尽管如此，它们都具有细胞膜基本结构。

1. 细胞膜

细胞膜基本结构见图 3[9]，是一种厚 5nm 的双分子脂质层，将细胞内液和细胞外液分开。脂质主要包括磷脂酰丝氨酸磷脂和磷脂酰肌醇磷脂，含饱和的和不饱和的脂肪酸和胆固醇。双分子层对疏水性分子渗透性高而对亲水分子渗透性低。

细胞膜含有内嵌蛋白和外镶蛋白。内嵌蛋白是球蛋白，通常横跨双分子层，通过疏水作用和静电作用镶嵌于生物膜内。这些蛋白可以形成通道、载体或转运极性分子通过细胞膜的泵。

2. 膜转运

药物跨膜转运已鉴别出数种机制。其中之一是被动转运。其他都是利用某种载体的转运机制。

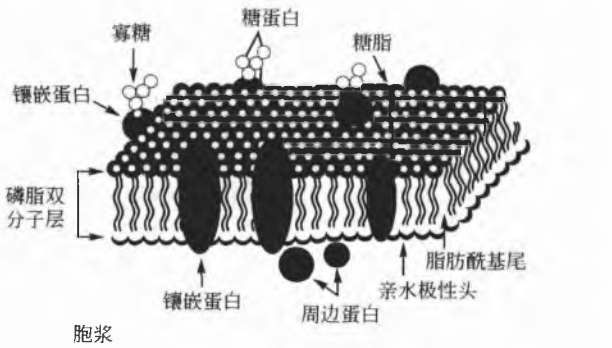


图 3 细胞膜结构模型。细胞膜由磷脂双分子层组成，极性头基团面向胞外和胞浆侧，酰基基团面向双分子层中间。镶嵌蛋白嵌于脂质双分子层中。细胞外侧镶嵌蛋白表面糖基化内侧表面磷酸化。外在膜蛋白、周边蛋白通过静电作用在胞浆表面与镶嵌蛋白相连

3. 单纯或被动膜转运

该转运机制主要依靠脂溶性和浓度梯度，是绝大多数药物的膜转运机制。膜渗透性范围非常宽。按经典理论，疏水分子分配系数高，而亲水分子分配系数低。浓度梯度决定物质透过生物膜的方向和速度。

弱酸或弱碱性分子在非解离状态更易穿过生物膜。不过，水中溶解有利于形成离子化形式。为了便于穿过生物膜，药物必须先溶解。对药物水溶性和脂溶性的相悖要求的平衡一直是药物吸收和药物制剂的一个挑战。

4. 转运蛋白

许多物质，特别是极性分子，透膜速率远远大于通过溶解性和渗透性数据推测的速率。一些甚至可以逆浓度梯度转运。这些预期外的膜高透过率与转运蛋白有关。许多转运蛋白已经被鉴定、克隆和测序。现代技术已经可以明确一些载体蛋白如通道、载体和泵。Wright 已综述了该系统鉴别和定性研究现状[9]。

5. 通道

最初推测膜上存在小分子水溶性孔穴是根据极性小分子有高度膜透通性。例如，水分子通透性比预测值快 1000 倍，尿素比预测值快 10～100 倍。根据这些观察而预测存在直径约 4 Å（1Å=10^{-10}m，下同）的水溶性通道。

5.1 水通道

能增加水的膜通透性的蛋白质的成功克隆证实了水通道的存在。水通道蛋白已经在红细胞和肾小管细胞上表达。

5.2 离子通道

生物膜上离子通道的证据在 20 世纪 70 年代就已被介绍。可能最重要的试验是由 Neher 和 Sakmann 所做的[10]，

他们记录了肌肉纤维上单个离子通道电流。许多离子通道如钠、钾、铅、氯离子都已经被描述，每一种离子通道都有自己特定的电导率、离子选择性和开放概率。离子通道的开放由电压控制或配体控制，相应称为电压门控通道和配体门控通道。每一种离子通道都有其特殊的药理作用。钠离子通道对钠的选择性是其他阳离子的 12 倍。钙通道对钙离子选择性是其他阳离子的 1000 倍。

6. 易化扩散

易化扩散是解释水溶性化合物转运的简单机制。该转运系统的主要特点是膜通透性远超过根据分配系数预测的通透性，出现顺浓度梯度转运，转运有饱和性，异构体之间有竞争性。易化扩散已成功解释糖和氨基酸的细胞吸收。

已经鉴别出六种组织分布、底物和特异性不同的人糖转运蛋白。哺乳动物细胞也已鉴别出多种易化氨基酸转运蛋白。其中最著名的可能就是转运中性氨基酸如亮氨酸、苯丙氨酸的 L-系统。

7. 泵

泵是以 5-三磷酸酰苷（ATP）为能源逆浓度梯度转运离子的蛋白。钠-钾泵能维持动物细胞内钠钾离子浓度，也能控制小肠和肾上皮细胞对盐的吸收。钠-钾泵每消耗 1 分子 ATP 将 3 个钠离子转出细胞同时将 2 个钾离子转入细胞内。3∶2 的比例，使细胞内失去 1 分子钠离子，细胞内电位下降，从而维持细胞静息电位。现在，试图阐明钠-钾泵各种亚型和亚单位的研究相当多。

8. 协同转运和交换子

逆浓度梯度使离子或离子化分子在细胞内累积的例子很多，如甲状腺吸收碘，肝细胞蓄积酸，小肠吸收糖和磷酸。最近研究显示，其中有协同机制。到目前为止，试验数据显示，钠或氢离子梯度是协同转运的，它们的离子梯度靠离子泵维持。葡萄糖透过小肠刷毛侧转运伴随钠的转运，葡萄糖吸收是由钠梯度驱动的。

8.1 协同转运

协同转运利用钠或氢离子梯度驱动底物转运。许多协同转运蛋白已被描述、克隆、测序和表达，钠-葡萄糖协同转运蛋白即是其中之一。

其他协同转运蛋白促进其他糖、渗透物和氨基酸转运。人小肠葡萄糖和乳糖吸收紊乱就是由于钠-葡萄糖转运蛋白缺失而引起的。

8.2 逆转运蛋白

最典型的逆转运蛋白或称交换子是氯-碳酸氢盐、钠-氢离子和钠-钙交换子。细胞钠-氢离子交换子控制细胞容积、pH、生长和钠转运。这些交换子的哺乳动物异构体已经被克隆并测序。钠-氢交换子对调节细胞内钙离子浓度和心脏收缩力有重要作用。强心苷的治疗作用也与因跨膜钠-氢梯度降低导致钠-钙交换降低有关。

9. 通透性糖蛋白

通透性糖蛋白（P-糖蛋白）是一种 ATP 依赖性外流泵，能将底物泵出细胞。它与肿瘤细胞对药物的耐受性有关。P-糖蛋白定位于小肠、肝脏和肾细胞顶膜及血脑屏障，该泵对药物吸收、分布、消除以及药-药相互作用可能有重要影响。

10. 胞饮和胞吞

胞饮是胞膜内陷形成胞内小颗粒并将底物吞入细胞内的非特异性过程。当底物结合特异性膜受体后，发生受体介导的胞吞。以这种方式摄入细胞内的底物被储存于小囊中或被降解。受体介导的胞吞包括细胞摄取免疫球蛋白和低密度脂蛋白。

影响药物吸收的剂型因素和吸收促进剂

药物理化特征和剂型均影响药物的稳定性和吸收特性。

1. 化学因素

选择不同化学结构可用于提高药物稳定性和系统生物利用度。例如，酸或碱可以制成酯类以获得更稳定的衍生物，一旦吸收就可以水解成活性母体。酸或碱形成盐后稳定性和溶解性提高。典型的例子是，青霉素可溶性盐比游离型更有助于提高循环中抗菌水平。弱酸盐在胃中溶解后，产生相对较高 pH 的扩散层，反过来它又促进弱酸盐的进一步溶出。同理可推测到碱性药物。不过，这个例子中 pH 的作用被胃液极低的 pH 所掩盖。那么，碱性药物的盐主要便于处理和溶解而不是促进溶出。

2. 物理因素

不同物理状态能够影响药物的吸收。典型的例子是晶体或多晶型、水合或溶剂化状态或特性、药物粒子大小，都影响药物吸收的速度和程度。

2.1 多晶型和无定形

很多化合物形成不同分子排布的晶体，或称多晶型，这些多晶型具有不同物理性质，如溶出速度和溶解度。维生素 B_2（核黄素）就存在几种不同晶型，其水中溶解度相差 20 倍。没有晶体结构的多晶型称为无定形，它与晶体型的物理特性不同。

许多口服给药的吸收受药物溶出速度限制。无定形通常比结晶型溶出更快，因为前者无须能量打破晶格。因为这个原因，无定形经常更优于结晶型，一些药物如氢化可的松和强的松龙的无定形就有显著的优越性。

Y

2.2 溶剂化

药物制备过程中，药物晶体可与一种或多种溶剂结合形成溶剂化物。最常见的溶剂是水。如果晶体结构中已存在水分子，则晶体吸收额外水分子溶解的过程就减慢。溶剂化（含水）晶体溶出速度小于无水型。已报道的含结晶水和无水化合物溶出过程明显不同的有氨苄西林、咖啡因、茶碱、格鲁米特和巯嘌呤。这些不同的化合物临床意义尚不清楚，但是可能有轻微差异。

2.3 颗粒大小

颗粒大小在药物吸收中扮演重要角色。固体颗粒溶出速率与其表面积成正比，因此要缩小颗粒大小。降低颗粒大小可以提高大多数难溶解药物的吸收，如双香豆素、地高辛、灰黄霉素、呋喃妥因和甲苯磺丁脲。

灰黄霉素水中溶解度极低，正常颗粒大小吸收很差且不稳定。微粉化可以促进吸收，超微粉化可使单分子分散于聚乙二醇后，吸收更高。

3. 剂型因素

设计适宜的药物剂型是更有吸引力的、稳定的、方便的方法。常规剂型药物溶出速率降低的顺序为溶液剂、固体溶液剂、混悬液、胶囊和片剂、包衣胶囊和片剂以及控释制剂。

3.1 溶液剂

水溶液剂、糖浆剂、酏剂和乳剂都不存在溶出问题，与固体制剂相比，它们通常快速而完全地被吸收。由于它们一般有良好的系统利用度，因此溶液剂常常作为其他剂型比较生物利用度的标准。

3.2 固体溶液剂

固体溶液剂是一种药物形成固体溶液或单分子分散在水溶性基质中的药物剂型。尽管固体溶液剂是一种提高药物吸收的诱人方法，但目前只有一种药物即灰黄霉素已成功开发成该种制剂。

3.3 混悬液

混悬剂中的药物是固态形式，但是分散很好，具有很大表面积。药物颗粒在胃和小肠中易于扩散，因此其吸收相对不受胃排空速率的影响。

和溶液剂相似，混悬剂可以用于服用固体制剂有困难的患者。溶液剂和混悬剂相对于固体制剂易于根据患者需要来调节剂量。因而，液体制剂除了溶出速率快还有许多优点。不过，它也有缺点，如体积较大、处理困难、可能的稳定性降低等。

3.4 胶囊剂和片剂

胶囊和片剂是最常见的口服制剂，这两种制剂不同之处在于，与压制片剂相比，胶囊剂内容物受压缩较少。胶囊壳一旦溶解，一般内容物迅速分散。囊材尽管是水溶性的，但是可能与药物发生相互作用而阻止药物溶出，不过这种情况不常见。

片剂一般有崩解过程，先崩解成大颗粒，再分散成小颗粒。随着颗粒变小，表面积增大溶出速率升高。

片剂的崩解曾被作为预测体内吸收的充分有效的指标，不过，已证明其并不充分，现在认为溶出是更好的指标。药品管理机构现在要求新口服制剂要报溶出速率数据。溶出度作为最有效反映体内吸收的体外参数，官方指南中这样的试验大量增加，反映出对溶出度广泛的认知度大幅度地提高了。

辅料：片剂和胶囊剂中除了活性物质外，还有各种所谓非活性成分，如淀粉、硅酸铝镁、甲基纤维素、羧甲基纤维素、乳糖、白陶土、滑石粉、硫酸钙和硬脂酸镁。片剂还有各种包衣材料以提高其稳定性、口感、外观和药物释放特性。尽管这些添加剂被认为是无活性的，但是它们会影响药物的溶出和吸收。辅料从硫酸钙变成乳糖，并提高硅酸镁的比例，可以提高口服苯妥英的活性。富勒土（硅藻土）能够降低硫胺素和核黄素的生物利用度。由于与磷酸钙络合，胶囊中四环素吸收下降。

这种相互作用大部分是以前报道的，现在新药物制剂和处方均有严格的试验，一般不太可能发生这种情况。

3.5 包衣片

片剂可以用虫胶、树脂或苯乙烯-马来酸共聚物包衣。这些包衣材料在酸中不溶，而在中性或碱性溶液中易于溶解。这样，制剂通过胃到达小肠之前，可以有效地阻止药物释放。阻止药物在胃中释放，可以保护那些酸不稳定的药物。包衣也可以使患者避免刺激性物质如铁盐、己烯雌酸和某些抗炎药的刺激。药物从包衣片中的释放和它们的全身生物利用度对胃排空模式高度敏感。

体外-体内相关性：体外溶出与体内生物利用度之间的相关性是现在相当令人感兴趣的课题。美国食品和药品监督管理局已建立一个研究项目，专门研究这种相关性，以获得它们之间内在依靠关系的证据，从而用这种关系更好地通过体外数据预测体内情况。实现第二步目标显然可以节约相当多费用。该领域研究主要目标以溶解性和膜渗透性评价药物或制剂吸收的差异[11]。

药物或制剂可分为四类：①高溶解度但低通透性；②高溶解度且高通透性；③低溶解度但高通透性；④低溶解度且低通透性。对于第③类，溶出可能是吸收的限速，体外溶出可能有用。从另一方面看，对于第①类，通透性可能是吸收的限速，体外溶出可能作用较小。对于第②和④类，不是很明确，体外一体内关系可能需要通过试验才能确定。

3.6 控释剂型

控释药物有值得推崇的优势，许多新型控释系统的开

发以及主要制药公司为保护其上市药物的权益都对这种类型制剂加大了开发力度。现已上市的大多数控释产品是利尿药、心血管和呼吸系统用药，还有中枢神经系统用药，但投到抗生素制剂的注意力较少。

控释制剂的优点：由于控释制剂一般都较贵，因此只有它们能够提高治疗效果才认为值得开发成控释制剂，如能够促进维持循环中药物治疗水平、降低给药频率、减少循环中药物水平波动、便于患者用药、缩短疗程、减少夜间服药、有更稳定的药理效应、降低胃肠道刺激、降低副作用等。在这些优点中的第二个优点，即降低给药频率，经常被作为开发控释制剂的充分理由，但是作为唯一的标准是不能接受的。现今重视医疗保健成本控制，这一点是可以理解的。

控释制剂的缺点：控释制剂潜在的缺点包括剂量突释的可能性、不易调节剂量、可能提高肝首过效应、可能延缓起效时间、可能降低生物利用度、药物释放时间受制剂在胃肠道最佳吸收位置的储留时间限制。

剂量突释，或称不慎药物快速释放，对于治疗指数窄的强效药物特别重要。严格的GMP生产一般可以降低这类事件发生的可能性。控释制剂要随意调节剂量比较困难。利用颗粒基质制备的控释片可以分开以降低剂量，而多次起效片剂或渗透泵片一旦制剂结构破坏，控释作用就消失了。肝清除的药物，只有常规制剂快速吸收才能使肝清除被饱和，控释制剂可能提高肝首过效应。控释制剂系统生物利用度一般都降低，通常生物利用度是常规制剂的80%～85%。胃肠道储留时间的限制也是口服控释制剂潜在的缺点，这也是口服控释制剂与其他控释制剂的区别（例如皮肤贴片，能够在相当长的时间内缓慢释放药物）。

不适合制成控释的药物：有些药不适宜制成控释制剂。这类药物的典型特征包括生物半衰期太短、生物半衰期太长、强效且治疗指数窄、剂量大、吸收差、溶出缓慢或极慢、主动吸收、发挥活性作用时程与体内循环药物水平不一致、具有广泛的首过代谢。

生物半衰期＜2h或者剂量大的药物要制成控释制剂，剂量可能要求大到超量程度。生物半衰期长的药物（＞8h）的常规制剂一般足够在体内维持缓效作用，缓释没有必要。溶解极慢的药物制成控释制剂可能由于溶出是限速步骤产生相反作用。服用华法林这种药理作用迟于其血药水平的药物，控释对疗效无任何好处。某些如β-内酰胺抗生素、氟尿嘧啶和某些氨基酸等主要在小肠近端吸收的药物，如制成控释制剂，可能会降低疗效，很少或不能起到延效作用。如前所述，常规制剂可以饱和肝首过效应，制成控释制剂后，系统生物利用度可能降低。

以上讨论提供了有用的通则，但是也有些特例。硝酸甘油生物半衰期小于0.5h。一般认为硝酸甘油吸收极差，并且被肝脏快速代谢。不过，许多硝酸甘油的口服控释制剂已上市。这些制剂使硝酸甘油达到很低的循环浓度，但是已足够预防心绞痛发作，不过不适于急性心绞痛发作。一些已生产和更多新的控释制剂见表1[12]。

表1 一些口服控释制剂[12]

类别	产品	有效成分
慢性溶蚀含初始快速释放剂量	Tedral SA	茶碱、麻黄碱、苯巴比妥
仅溶蚀核	Tenuate Dospan	安非拉酮
多次起效片	Chlor-trimeton 多次起效片	伪麻黄碱、氯苯那敏
小丸胶囊	Combid 缓释胶囊	异丙胺、丙氯拉嗪
小丸片	Theo Dur	茶碱
浸沥法	Desbutal 控释片	去氧麻黄碱、戊巴比妥
离子交换树脂	Biphetamine	右旋苯丙胺、苯丙胺
络合物	Rynata	氯苯那敏、去氧肾上腺素、美吡拉敏
微囊	Nitrospan	硝酸甘油
胃漂浮－扩散	Valrelease	地西泮
渗透泵	Acutrim	苯丙醇胺
	Procardia XL	硝苯地平

4. 吸收促进剂

口服剂量通常比其他给药途径更方便，但是许多药物口服吸收很差。为了寻找新的或疗效更高的药物，化合物分子越来越大，结构越来越复杂，一般脂溶性也更强，但吸收更低。为了改善这个问题，相继研究了一些吸收促进剂，也取得了不同程度的成功。这些主要是在动物研究中，已证明许多化合物有促进药物吸收的作用，见表2[13]。大多数化合物在人身上仅有少量或根本还没有得到可用的数据。

表2 几类口服吸收促进剂[13]

非甾体抗炎药
表面活性剂
胆盐
中链脂肪酸
混合胶束
脂质体
氮酮
细胞促渗剂
纳米粒

4.1 非甾体类抗炎药（NSAIDs）

非甾体类抗炎药，特别是吲哚美辛、双氯芬酸、依匹唑、保泰松和水杨酸盐能够促进其他药物吸收，如胰岛素、氨苄西林、头孢噻吩、头孢西丁和头孢美唑。大多数发现都是来自大鼠，通常是直肠给药。NSAIDs促进药物吸收

Y

的机制已有假说，但确切机制尚不十分清楚。由于 NSAIDs 经常刺激胃肠道黏膜，可能与其促进吸收能力有关，它们用于促进药物吸收的可能性尚不确定。

4.2 表面活性剂

考虑到表面活性剂有助溶作用和潜在的改变生物膜渗透性的作用，因此认为表面活性剂可以作为吸收促进剂，其绝大部分研究也是来自动物实验。实验表明聚氧乙烯酯能够促进大鼠和家兔胃或直肠对林可霉素、青霉素、头孢霉素和磷霉素的吸收。大鼠实验中，油酸和油酸甘油聚氧乙烯酯能够将 α-干扰素结肠吸收从 3%提高到 8%。

一些研究表面活性剂对小肠吸收胰岛素影响的试验，得到的结果各异。阴离子和阳离子表面活性剂都可以促进胰岛素直肠和空肠的吸收。不过，聚氧乙烯-20-油酸酯使口服胰岛素的吸收差且变异很大[14]。

表面活性剂对药物吸收的任何作用显然与提高药物溶解性，改变黏膜渗透性，或降低胃肠道表面不流动层抵抗性有关。一般来说，非离子型表面活性剂对膜结构作用较小，而阳离子表面活性剂与可逆性细胞丢失和杯细胞丢失有关。这些作用都限制表面活性剂作为吸收促进剂使用，特别是长期使用。

4.3 胆盐

胆汁包含胆酸和鹅脱氧胆酸的共轭物，可以乳化食物中脂肪，促进脂水解，以乳糜增溶作用通过小肠黏膜的不流动层转运脂质分子。胆汁盐促进脂质吸收的能力提示其可以作为吸收促进剂促进药物吸收，并取得一定成功。动物实验研究显示其能够提高小肠对肝素和 α-干扰素的吸收。在动物和人体试验中，均发现胆盐能促进胰岛素吸收。对药物吸收作用的影响也显示与黏膜损伤相关。由于胆盐可能伴随有促致癌和促致突变作用，因此降低了胆盐作为吸收促进剂的优势。

4.4 中链脂肪酸和甘油

食物中的中链脂肪酸和甘油激起人们将它们作为吸收促进剂潜在用途的研究兴趣。在许多情况下，大多数是动物实验直肠给药后，某些脂肪酸和甘油已经显示可以促进药物吸收。不过，某些口服给药实验也产生阳性结果。胰岛素与十二烷酸和十六烷酸混合后口服，生物利用度相对于肌内注射提高了 9%～13%[15]。甘油酰-单辛酸能够提高动物口服、十二指肠和直肠给药后的 Aftiraxone 吸收。

尽管这类化合物有作为吸收促进剂的潜能，它们也显示对黏膜表面完整性有不良影响，尚需要更多研究来评价其利弊。

4.5 混合胶束

混合胶束含有表面活性剂或胆盐助溶的脂肪酸。Muranishi 等综述了混合胶束对药物吸收的促进作用[16]。混合胶束是肝素、链霉素、庆大霉素和胰岛素的有效吸收促进剂。混合胶束在胃肠道远端对药物吸收的促进作用更强。其促进吸收的机制尚不清楚。一些人认为混合胶束使用安全，另一些报道认为它可能引起小肠表皮细胞功能失调。

4.6 脂质体

脂质体是由磷脂和胆固醇包裹水溶性小室形成的单层或多层小体。药物被包裹在脂质体内，在小肠黏膜表面，药物从脂质体中释放后吸收。20 世纪 70 年代和 80 年代，该剂型受到相当广泛的关注，一些动物实验显示它具有促进吸收作用。不过，另一些研究中，却无促进作用。另外还存在稳定性问题，导致人们对于脂质体作为吸收促进剂的研究兴趣下降了。

4.7 氮酮

氮酮（1-正十二烷基氮杂环庚-2-酮）和相关化合物已经作为透皮和口服吸收促进剂被研究。尽管氮酮有些促进吸收作用，但是为提高药物吸收，氮酮透过小肠黏膜必须加入一种乳化剂。一项研究表明，黏膜暴露于氮酮后，有显著形态学损伤[17]，但是尚没有更多关于氮酮对整个黏膜结构作用的信息。

4.8 细胞促渗剂

尽管大多数吸收促进剂的研究目的都避免其与黏膜直接相互作用，但是细胞促渗剂就是这样提高药物吸收的方法之一。现在吸收促进剂的一种形式就是含有糖基化分子或两性的表面基团。据说这类化合物可暂时改变细胞膜通透性，设计促进剂分子自动排列在细胞膜表面，形成瞬时小孔促进亲水分子穿过细胞膜。该技术对吸收促进剂的发展有相当大的作用。到目前为止，未发现不良反应[18]。

4.9 纳米粒

从已知的表面积和溶出速度的关系来看，我们有理由认为超微粉粒能够提高相对不易溶药物的溶出速度。如果这些颗粒能够保持稳定，避免聚集和凝聚，且保持流动性，那么就可以得到有用的药物产品。

这个概念已用于纳米技术，即利用稳定剂将药物降至纳米级大小的颗粒。该技术最初用于设计静脉注射药物[19]，人们发现该技术对于提高水中难溶物的吸收相当有帮助。因为纳米粒系统是纯粹的制剂学技术，所以它不可能影响胃肠道黏膜的完整。纳米粒可以足够小，它们可以用于肠道外给药，无明显不良反应。据说，它更可能成为一种新型吸收促进技术。

结论

药物吸收至全身循环的速度和程度是影响药物药理活性的关键因素。药物可以通过各种途径给药，每种途径都有其优缺点。特定药物的给药途径要根据药物的特点和所要求的全身活性作用特点确定。

随着人们对生物膜结构和透膜转运的认识提高，对药物吸收机制和所选给药途径的理解也进一步提高。

剂型因素在药物吸收中继续扮演着关键作用。人们已经研究了许多促进剂技术，并取得不同程度的进展。值得一提的是，一些依赖剂型或生物膜作用的新技术对于提高口服给药吸收有巨大潜力。

参考文献

1. Yamada, K.; Bremer, A. M.; West, C. R.; Ghoorah, J.; Park, H. C.; Takita, H. Intra-arterial BCNU Therapy in the Treatment of Metastatic Brain Tumor from Lung Carcinoma. A Preliminary Report. Cancer 1979, 44, 2000—2007.
2. Goldman, J. A.; Peleg, D.; Agmon, M.; Shapiro, G. Arteriography and Chemotherapy in Localized Trophoblastic Disease by Means of Local-Pelvic-Intra-arterial Infusion. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 1979, 58, 415—416.
3. Florence, A. T.; Jenkins, A. W.; Loveless, A. H. Approaches to the Formulation of a Long-acting Intramuscular Injection. J. Pharm. Pharmacol 1973, 25 (Suppl.), 120—121.
4. Chandrasekaran, S. K. Controlled Release of Scopolamine for Prophylaxis of Motion Sickness. Drug Dev. Ind. Pharm 1983, 9, 627—646.
5. Su, K. S. E.; Campanale, K. M. Nasal Drug Delivery Systems Requirements, Development and Evaluations. Transnasal Systemic Medications; Chien, Y. W., Ed.; Elsevier Scientific: Amsterdam, 1985; 139—159.
6. Newman, S. P.; Miller, A. B.; Lennard-Jones, T. R.; Moren, E.; Clarke, S. W. Improvement of Pressurised Aerosol Deposition with Nebuhaler Space Device. Thorax. 1984, 39, 935—941.
7. Rogge, M. C.; Johnson, C. A.; Zimmermann, S. W.; Welling, P. G. Vancomycin Disposition During Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis: A Pharmacokinetic Analysis of Peritoneal Drug Transport. Antimcrob. Ag. Chemother. 1985, 27, 578—582.
8. Ritschel, W. A.; Elconin, H.; Alcorn, G. J.; Denson, D. D. First-pass Elimination of Lidocaine in the Rabbit after Peroral and Rectal of Administration. Biopharm. Drug Dispos. 1985, 6, 281—290.
9. Wright, E. M. Membrane Transport. Pharmacokinetics: Regulatory, Industrial, and Academic Perspectives, 2nd Ed., Welling, P. G., Tse, F. L. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995; 89—118.
10. Neher, E.; Sakmann, B. Single-channel Currents Recorded from Membrane of Denervated Frog Muscle Fibres. Nature 1976, 260, 799—802.
11. Amidon, G. L.; Lennernas, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutics Drug Classification: The Correlation of In Vitro Drug Product Dissolution and In Vivo Bioavailability. Pharm. Res. 1995, 420, 413—420.
12. Welling, P. G. Physicochemical and Formulation Factors Affecting Drug Absorption. Pharmacokinetics: Processes, Mathematics, and Applications, 2nd Ed., American Chemical Society: Washington, DC, 1997; 88.
13. van Hoogdalem, E. J.; de Boer, A. G.; Breimer, D. D. Intestinal Drug Absorption Enhancement. An Overview. Pharmacol. Ther. 1989, 44, 407—433.
14. Galloway, J. A.; Root, M. A. New Forms of Insulin. Diabetes 1972, 21 (Suppl 2), 637—648.
15. Touitou, E.; Rubinstein, A.; Donbrow, M.; Azaz, E. New Hydrophilic Vehicle Enabling Rectal and Vaginal Absorption of Insulin, Heparin, Phenol Red and Gentamicin. J. Pharm. Pharmacol. 1978, 30, 662—663.
16. Muranishi, S. Modification of Intestinal Absorption of Drugs by Lipoidal Adjuvants. Pharm. Res. 1985, 2, 108—118.
17. Murakami, M.; Takado, K.; Muranashi, S. Promoting Effect of Azone on Intestinal Absorption of Poorly Absorbable Drugs in Rats. Int. J. Pharm. 1986, 31, 231—238.
18. Cheng, Y.; Ho, D. M.; Gottlieb, C. R.; Kahne, D. Facial Amphiphiles. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 7319—7320.
19. Gazelle, G. S.; Wolf, G. L.; Bacon, E. R.; McIntire, G. L.; Cooper, E. R.; Toner, J. L. Nanocrystalline Computed Tomography Contrast Agents for Blood-Pool and Liver-Spleen Imaging. Invest. Radiol. 1994, 29, S268—S288.

（高东雁　宋浩亮　译）

Y

药物分析中的电化学检测

Damon M. Osbourn
Craig E. Lunte
The University of Kansas, Lawrence, Kansas, U. S. A.

引言

为了使药物产品从研发阶段转入上市阶段，必须采用大量的分析方法。分析化学家为产品的质量控制、稳定性试验、药物动力学、鉴别和临床研究进行了大量的方法研究。分析人员从大量技术中进行选择，比如核磁共振、质谱、分离方法、光谱以及电化学法等，每种方法都有自身的优点。电化学法具有很多优点，因而成为药物分析中一个有吸引力的选择。大多数电化学技术都具有出色的检测限和宽动态范围。电分析技术只需要极少容量的样品，通常为微升级，与其低检测限相结合，可以进行皮克级以下样品的分析。在复杂样品中，电化学检测的选择性非常出色，因为可能存在的电活性干扰物质通常比光谱干扰物质少得多。由于这些原因，当只有少量体积的血或尿，必须对其中低浓度的药物和代谢物进行分析时，电化学是唯一适用于临床和生物分析的手段。此外，还开发了许多体内分析方法。最后，与其他分析技术相比，电化学法所用仪器简单价廉，甚至电化学池可一次性使用。随着微型加工技术的出现，电化学池的设计重现性更加出色，使用更加简单，成本更加低廉。

电化学检测建立在浸入样品溶液中的两个电极间发生电信号的基础之上。电分析技术分为两大类：电位测定技术和法拉第技术。电位测定法是测定平衡条件下（也就是没有电流）两个电极之间的电位差，电位与被测物的浓度有关。法拉第法则建立在被测物的氧化或还原反应的基础之上，即施加一定的电压波形，产生的电流用于获取样品信息。为了获得被测物的定量、定性等信息，人们已经开发了许多不同技术。本章涵盖了文献中用于药物分析的许多不同技术的基础知识，引导读者了解这些技术在当今药物方面的应用。

电位测定技术

尽管电化学法有着使用困难的缺点，因此在选择分析方法时往往被忽略，但是电位测定法可能是最常用的技术了。很多分析化学家每天都与电位测定法接触，如常用的pH计。电位测定法建立在测定浸入待测溶液中的两个电极之间电位的基础之上。在测定池内电位时，两个电极之间没有电流，因此电位测定法是一种平衡技术。第一根电极，也就是指示电极，用来指示待测溶液中特定组分的活性。第二根电极是已知固定电位的参比电极。指示电极的设计是电位测定法的基础，应当与被测物选择性地发生相互作用，这样其他样品组分就不会对测定产生干扰。人们已经开发了各种方法制作指示电极，对大量物质均有良好的选择性响应，包括有机离子。

图1为电位测定法所用电化学池的示意图。电化学池由一个外参比电极和一个指示电极组成，两者均浸于具有一定活度 $(a_i)_{\text{sample}}$ 的待测物溶液中。指示电极由一个包于膜内的参比电极和具有固定活性 $(a_i)_{\text{internal}}$ 的内参比电解质组成。电位（E_{cell}）通过pH/mV计测定，等于内参比电极（$E_{\text{ref,int}}$）和外参比电极（$E_{\text{ref,ext}}$）之间的电位差，膜电位（E_{memb}），加上存在于外参比电极和样品溶液之间接界处的液体接界电位（E_{lj}）的总和。

$$E_{\text{cell}} = E_{\text{ref,int}} - E_{\text{ref,ext}} + E_{\text{memb}} + E_{\text{lj}} \quad (1)$$

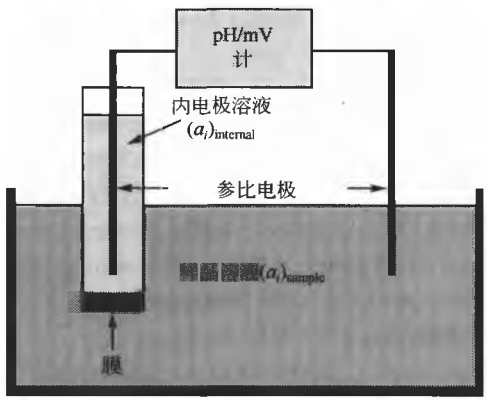


图1 电位测定法电化学池的示意图

如果半透膜对特定离子（i）具有选择性，膜内外将产生电位差。这种电位差可以用Nernst方程来表达，取决于膜两侧离子活度之间的比值：

$$E_{\text{memb}} = \frac{RT}{zF}\ln\frac{(a_i)_{\text{sample}}}{(a_i)_{\text{internal}}} \quad (2)$$

式中：z 为离子的电荷数；R 为摩尔气体常量［8.314J/(mol·K)］；T 为温度（K）；F 为法拉第常量（96 485C/mol）。将式（2）代入式（1）中，电化学池中电位的总表达式可写成

$$E_{\text{cell}} = E_{\text{ref,int}} - E_{\text{ref,ext}} + \frac{RT}{zF}\ln\frac{1}{(a_i)_{\text{internal}}} + E_{\text{lj}} + \frac{RT}{zF}\ln(a_i)_{\text{sample}} \quad (3)$$

电位测定池通常这样设计，从而使两参比电极之间的半电池电位和内电解质的组成均保持不变。样品溶液需维

持在一个恒定的高离子强度中，这样 E_{ij} 才能保持恒定，式（3）可以简化为

$$E_{cell} = K + \frac{0.0591}{z}\log(a_i)_{sample} \quad (4)$$

当温度为25℃时，K 代表了在式（3）中保持恒定的那些条件。电池电位和被测物活度之间的这种关系是电位测定法的基础。在25℃测定时，E_{cell} 对一系列待测物浓度的 $\log a_i$ 应呈线性关系，斜率为 $0.0591/z$。

可惜的是，膜对溶液中除被测物以外的离子也有一定程度的响应。比式（4）更全面的表达式如下：

$$E_{cell} = K + \frac{0.0591}{z}\log(a_i + k_{ij}a_j^{z/x}) \quad (5)$$

式中：a_j 为干扰离子 j 的活度；x 为离子 j 的电荷数；k_{ij} 为测量的选择常数。k_{ij} 值越小，电极对被测物 i 的选择性越好。

法拉第技术

法拉第技术是根据电极内发生的被测物氧化反应或还原反应，测定由此产生的通过电化学池的电流。此处的讨论只限于电位控制技术，主要是伏安法（voltammetry），以及与液相色谱法联用的安培测定法（amperometry）。当其他感应电流电化学技术得到开发，电化学技术在大体积溶液中得到普遍应用时，液相色谱用这两类检测方法成为药物研究领域中最常用的电化学技术。

在与样品溶液接触的电极上施加一定的电压波形，这是所有控制电位电化学技术的基础。通过改变所施加的电压波形，或者改变响应区域，各种不同的技术可以轻松处理检测输出。响应可以为电流、电荷，某些情况下还可以为光子。电化学技术的优势就是仪器要求非常简单，而且其所有技术在本质上都是相同的。基本的仪器系统由一个为电极提供可控电压的稳压器和一种检测响应（通常为通过电极的电流）的装置组成。实际上，适用于多种电化学技术的简易仪器可以由多个途径获得。

为了成功应用法拉第电化学技术，必须理解发生在电解质溶液中电极表面的基本过程。当在溶液中两个电极之间施加一定的电压时，在电极表面将形成一条狭窄的相间区域，带双电层。电极和被测物之间发生的所有氧化或还原电化学反应，均发生在这个处于电极表面和本体溶液之间的相间区域中。本体溶液保持电中性，因为电极间的电位降仅存在于相间区域中。因此，本体溶液中的分子不会感到电极或者电位梯度的存在。双电层（到电极距离通常小于 10^{-6}m）中的分子在电化学实验中才能被探测到。

同样重要的是，理解如何将电极设置到与本体溶液相关的某一电位处。电极和本体溶液之间的电位差无法测量，因此，必须使用第二电极。因为溶液中两电极之间的电位差可以测定，如果溶液和一根电极的电极电位差保持恒定，那么溶液和第二电极之间的电位差就与两根电极之间的电位差直接相关。可以通过引入参比电极，使一根电极与溶液之间的电位差保持恒定。参比电极采用一种可逆的氧化还原对，比如银-氯化银，维持一个具有固定参比值的恒定电位。即使完全不知道本体溶液和电极之间的电位差，也可以相对于这个参比点建立起它们之间的电位。

在前述的双电极系统中，具有参比电位的电极可以认为是反电极，而相对于反电极，被施加电位差的电极称为工作电极。在工作电极中，发生氧化还原反应。除了维持一个参比电位外，反电极还扮演着第二个角色，这就是完成电路循环，允许电荷通过电化学池。可惜的是，反电极的这两种功能不是相互独立的。当电流通过反电极时，溶液中的电位差会发生变化。这种影响甚至在低电流的情况下也会出现，在大多数实验设计中，将反电极分解为两个电极，得到一个三电极系统，从而解决这个问题。在三电极系统中，参比电极维持恒定的参比电位，用来完成电路循环的电极称为辅助电极，施加电压来驱动氧化还原反应的电极则称为工作电极，见图2。这种设计可以忽略通过参比电极的电流，因此无论有无电流通过电化学池（工作在辅助电极下），相对于溶液的电位总是恒定的。

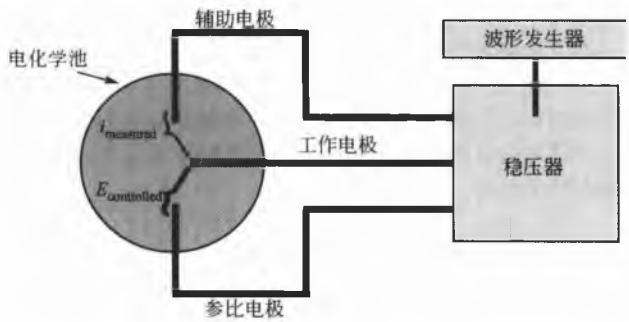


图2 法拉第电化学池的示意图

在强电介质比如水中，当在电极和溶液之间施加一定的电压，电极表面将产生多余的电荷，电荷的数量与所施加的电压成正比。溶剂分子和电解质在电极表面定位，与电极电荷相遇，从而形成了相间区域，也就是我们由分子排列理论所知道的双层。电极和溶液的接触面所发挥的作用与电容相似。因此当电极表面和溶液之间的电位差发生变化时，会产生“双层充电电流”。这种充电电流与恒定电位技术，比如安培测定法没有多少关系；然而，它们对后面讨论的伏安法会产生重要影响。

法拉第定律是所有电分析化学的基础：

$$Q = nFN \quad (6)$$

式中：Q 为电荷数(C)；n 为转移电子的数量（equiv /mol）；F 为法拉第常量（96 485C/equiv）；N 为反应物的摩尔数。法拉第定律表明了通过电化学池的电荷与化学反应数量之间的直接关系。为了达到分析目的，法拉第定律与时间之间的微分关系通常更加有用：

$$i(t) = (dQ/dt) = nF(dN/dt) \quad (7)$$

式中：i（t）为电流（A）与时间有关的函数；dN/dt 为电极表面反应物的转变速率。采用这种形式，法拉第定律成

Y

为将化学反应速率与电响应联系起来的速率方程。电化学法是为数不多可以测定单点即时速率的技术之一。描述各种电化学技术响应的方程都以这个方程为基础。

法拉第定律表明了电化学法用于分析的优点。当电流小到仅有 10^{-9} A 时，而这个值很容易测定，低至 10^{-14} equiv/s 的转换速率也易于测定。这意味着采用电分析技术，可以达到 10^{-9} moL·L^{-1} 范围内的检测限。

尽管电分析技术自身的灵敏度极高，但是混合物中电活性组分的分离却十分困难。实际情况是，将有效的“电位窗”限制为不得超过 3V，通常为 1.5V。这是因为在更高的电位下，介质或者电极本身会发生氧化或者还原反应。除此之外，化合物电化学响应与施加电压相关也相当宽泛，这样为了达到足够的分离，在半波电位处至少需要施加200～400mV 的电位差，这通常将进行电化学分离的混合物中存在的电活性化合物限制在不得超过 3 个或 4 个的范围内。

由于缺乏这种分辨能力，大部分电分析研究都集中在如何提高选择性上。这可以通过两个方法来实现。第一，将电化学法与其他技术结合，由后者提供选择性，例如液相色谱与电化学检测相结合，以及电化学酶免疫测定。第二种方法就是修饰电极上的电化学反应，从而提高选择性，例如当电极表面的化学反应不仅仅受电化学因素的限制，还包括物理和化学性质时，可以采用修饰电极的方法。下文将详细介绍这些方法是如何为电分析技术提供高选择性和低检测限的。

离子选择性电极

离子选择性电极（ion-selective electrode，ISE）已经成为电位测定应用中的关键。实际上，ISE 是测定通过膜的电位差，如图 1 所示。因此，测量的池电位，也就是电化学响应，建立在膜和被测物之间的相互作用基础之上，这种相互作用可以改变通过膜的电位。ISE 对被测物的选择性取决于膜与被测物相互作用的专属性。

在 ISE 的应用中，膜的发展极为重要，能够体现对被测物的灵敏度和选择性。在这两种性质中，选择性更加难以达到。根据 ISE 中膜的选择性，人们设计了三种基本类型的膜，分别是液体聚合物膜、固态膜和玻璃膜。商品化的电极适用于多数无机离子，如 H^+、Li^+、Na^+、K^+、Ag^+、Ca^{2+}、Cu^{2+}、Pb^{2+}、Cd^{2+}、F^-、Cl^-、Br^-、I^-、SCN^-、NO_3^-、ClO_4^- 和 BF_4^-。此外，适用于有机阴离子和阳离子的电极也已有报道[1～5]。

不少有机离子 ISE 已经应用于药物分析中[6～8]。ISE 的应用范围包括：成品中赋形剂测定[9]和规定杂质检查[10,11]，以及药物动力学研究中药物的含量测定[12～14]等。

ISFET 离子感应场效应晶体管

离子感应场效应晶体管（ISFET）是一种电化学传感器，建立在对金属氧化物半导体场效应晶体管（MOSFET）进行改进的基础之上。MOSFET 的金属门被一个参比电极代替，绝缘门浸于被测物溶液中，或者被一层离子选择性膜包裹[15]，如图 3 所示。

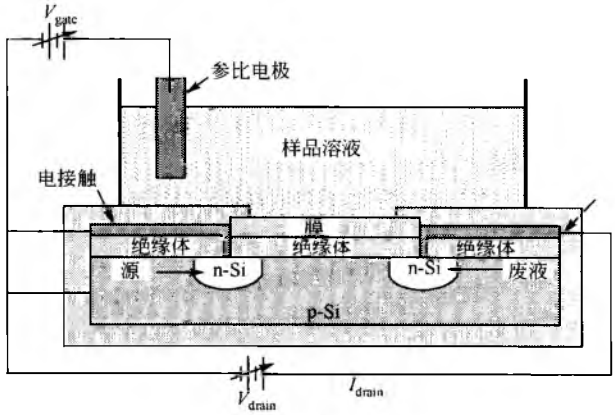


图 3 ISFET 的示意图

该装置的剩余部分由一种合适的密封材料加以保护。绝缘体，如 SiO_2、Al_2O_3 和 Ta_2O_5，表面具有羟基，当浸于电解质溶液中，就成为发生化学反应的场所。这些表面的质子化作用和去质子化作用使表面电荷发生改变，影响了表面电位，从而使 ISFET 的漏电流和溶液的 pH 产生关系。例如，Al_2O_3-ISFET 在 pH 2.5～10.5 的范围内[15]，放大电压与 pH 值之间成线性响应，斜率为 53mV/pH。此外，用于利多卡因[16]、可卡因[16]、苯甲烷铵[16]、水杨酸和乙酰水杨酸[17]以及胆酸[18]等含量测定的 ISFET 装置也已经报道。人们之所以对 ISFET 感兴趣，是因为微电极价格低廉，且易于制备。然而，密封性和稳定性等问题阻碍了这些装置的商业成功。

液相色谱/电化学

液相色谱/电化学（LCEC）已经成为一种公认的强大工具，用于易于氧化还原的化合物痕量分析。这是因为仪器装置相对简单，价格低廉，很容易得到低达 0.1pmol 的检测限。人们对 LCEC 的最初兴趣来自于酪氨酸在中枢神经系统中的几种芳香族代谢物测定。然而，LCEC 在其他分析领域的应用还包括药物分析，特别是在药物动力学和药效学研究中的应用已经相当普遍[19～22]。

1. 流体动力伏安法

用于 LCEC 的电化学检测器的基本特征是流体动力伏安图（hydrodynamic voltammetry，HDV）。流体动力伏安法是一种稳态技术，电极电位随被测物的连续进样而变化，电流则为电位的函数。图 4 为只有电解质溶液（流动相），以及加入氧化性物质时的理想 HDV。化合物的 HDV 从化合物无电活性时的电位开始，此时不存在感应电流，接着经过一段电流增长的区域，最后到达一个极限电流的平台，在这个平台上，实际上所有到达电极表面的化合物均被氧化。HDV

的特征参数是半波电位（half-wave potential），$E_{1/2}$，即电流值为极限电流一半时的电位。HDV 上升部分的斜率可以通过 Nernst 方程和电极表面的电子转移动力学来获得。

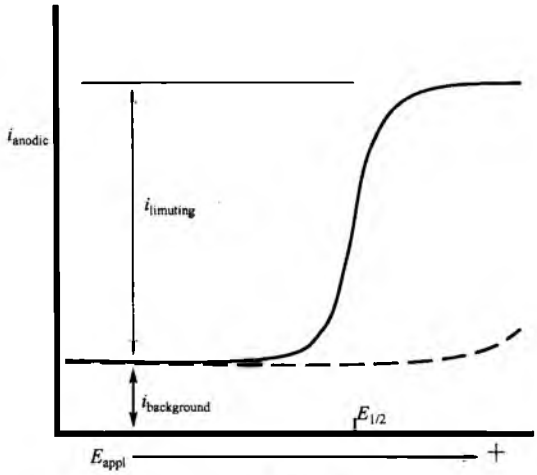


图 4 HDV

HDV 可以用来选择 LCEC 实验的工作电压，下面两个因素非常重要。第一，定量测定建立在来自于被测物的氧化还原电流和背景电流之间的可分辨程度的基础之上，因此，在最小的合理施加电压下工作，意味着背景电流通常会随电位增加而增加。第二，在极限电流平台中工作，意味着来自于被测物的氧化还原电流与所施加的电压无关。因为在 LCEC 实验过程中，电极表面的变化能够引起相间电位差的微小变化，即使存在微小变化，工作在极限电流平台中保证了恒定的响应值，总而言之，这些因素表明，通常选择极限电流平台处的电位进行 LCEC 实验。

2. 流动相因素

当所有检测器受流动相组分限制时，在电化学检测中，应当认识涉及到的复杂的表面反应，这取决于介质的物理性质和化学性质。为了优化 LCEC 测定，必须同时考虑色谱条件和电化学条件。幸运的是，绝大多数常用的液相技术均属于反相分离，流动相要求与电化学要求一致。电化学检测的基本要求是流动相具有相对高的电导率，通常使用中等离子强度（0.01～0.1mol/L）的缓冲流动相。很明显，所有的非极性有机流动相不能使用，因为其无法提供一定的离子强度，这就排除了经典的正相分离。LCEC 的绝大部分应用都是反相、离子交换或者离子对分离。对于水溶液，可以在流动相中加入一定量（最多 90%，体积分数）的有机修饰剂。如果非水流动相能够维持电解质，也可以使用。LCEC 中使用的有机溶剂包括甲醇、乙腈、二甲基甲酰胺和二甲亚砜等，以及盐类，如四氟硼酸的六氟磷酸四丁基铵盐作为电解质。

3. 电极材料

电极材料的选择对于 LCEC 的成功应用非常重要。以前，选用的材料是碳糊，即石墨粉和介电黏合剂（比如矿物油）的混合物。碳糊在正电位下的背景电流较低，同时机械稳定性良好。然而，碳糊电极与有机溶剂量超过 20% 的流动相却不能同时使用。结果，玻璃（或玻璃质）碳电极比碳糊电极更加常用。这主要因为玻璃碳与有机溶剂兼容，且容易使用。此外，玻璃碳在负电位下表现的背景电流比碳糊更低。近来，人们开始研究钻石电极，尽管其仍需要得到广泛的关注。汞电极也已经用于 LCEC，汞的机械稳定性较差，通常与金形成汞齐电极。汞在负电位下工作表现最佳，但是通常不能用于氧化性检测，这是由汞自身的低氧化电位决定的。铂电极已经在一定的限制范围内使用，但是由于表面容易生成氧化层，还不能普遍使用。如果要说某种电极材料在任何情况下均优于别的材料，这是不可能的。为了获得最佳的选择，最好采用几种不同类型的电极对每个氧化还原系统进行评价。

4. 池设计

电化学流动池的设计能够显著影响检测的性能，由于这个原因，人们设计了几种不同类型的流动池，用于液相色谱检测。最常见的设计是薄层池，工作电极是色谱流出液流经的薄层通道壁的一部分。薄层池可以设计成使流动方向与电极平行[23]，或者如图 5 所示的放射状发散后垂直于表面，称为壁喷流池（wall-jet cell）[24]。薄层池的设计提供了一个电极表面积对溶液体积的高比值，从而提供了高灵敏度。同时由于薄片状流动具有出色的滞流性，降低了与流动有关的噪声。此外，薄层池的设计与所有电极材料实现了兼容，使电极表面的再生变得方便。大部分商品化的电化学检测器都使用薄层池。

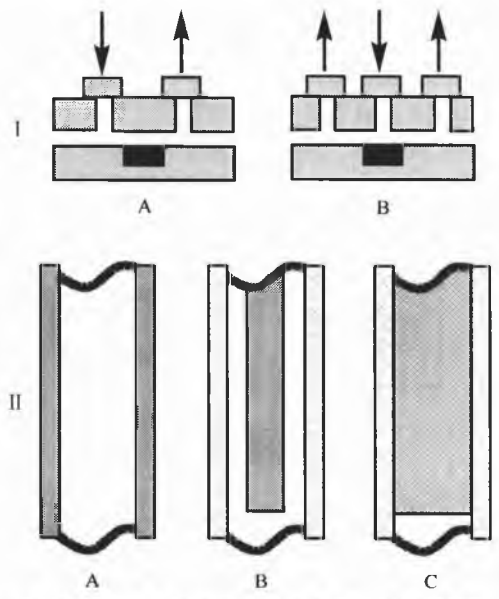


图 5 LCEC 的流动池。ⅠA. 薄层池；ⅠB. 壁喷流池；ⅡA. 空心池；ⅡB. 毛细管池内的金属线；ⅡC. 填充层池

Y

建立在圆柱体的基础之上的流通型电化学检测器也已经得到发展[25~28]，而不是平面结构。用于液相色谱的圆柱体池主要有三种设计，见图5。从应用观点上看，空心电极不太具有吸引力，因为许多常用的电极材料不能使用（比如汞和碳糊），电极表面的再生也比较困难，而且表面体积比也不大。随着空心液相色谱柱的出现，毛细管中的金属线池设计已经越来越引起人们的注意。Knecht等[29]已经对这种直接位于空心液相色谱柱末端的电化学池的制作进行了描述。

填充层电极（图5）有利于制造高转换效率的电化学检测器。因为常用的填充层池具有相当大的电极表面积，所以背景电流很高是一个问题。填充层池的另一个缺点是电极表面难以再生，采用抛光等物理方法进行电极表面再生是不可能的，必须采用温和的化学方法。管状填充层电极池应用于电学合成中最佳，因此获得100%的转换率对合成非常重要。

尽管可能同时监测几个电极中的电流，但大多数LCEC应用仍采用单工作电极。实际上，使用的工作电极越多，情况越复杂，因此实际应用中限定使用两个工作电极。相对于单电极检测，使用双工作电极具有一些优点[30]。商品化的双电极检测器装置可以采用薄层池设计，也可以采用填充层池设计。

这两种池设计均允许第二根电极位于第一根工作电极的下游（图6），这称为串联结构。这种电化学传感器与传统的环盘式电极的使用方式相同。上游电极的产物在下游电极处被检测（采集）[31]。当上游的电解产物能够在比上游反应所需电位更加有利的电位处被检测时，选择性就会提高。此外，为了进一步提高选择性，改善检测限，化学不可逆的氧化还原对不可以在串联结构的下游被检测。这种池设计已经应用于药剂中特布他林[32]、血液[33]和尿液[34]中对乙酰氨基酚、血浆中去甲肾上腺素和异丙肾上腺素[35]、血液中毒扁豆碱及其代谢物[36]、血液中富马酸赛莫地尔及其代谢物[37]、血浆中奥索地平[38]以及血浆和尿液中罗红霉素[39]的测定。这种串联结构也已经用于研究发生在上游电极处的电化学反应[40]。

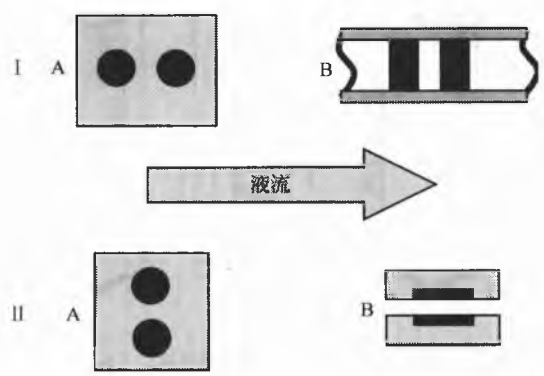


图6 LCEC的双电极池。Ⅰ. 双串联池；A. 平面形；B. 圆柱体形；ⅡA. 双并联池；ⅡB. 双相对池

薄层池设计也允许两根电极相邻排列，与流路方向垂直（图6），这称为并联结构。采用这种结构，每个电极中（通常施加的电压不同）的电流单独监测，与双波长紫外吸收检测器相似。这种并联结构可以用于三种途径：第一，具有氧化性和还原性的化合物可以同时检测[41]；第二，当存在难以被氧化（或被还原）的被测物时，通过使用一根电极在相对低电位下检测易被氧化的被测物，使用另一根电极在低选择性电位下检测难以被氧化的被测物[42]，可以选择性地检测易被氧化（或被还原）的被测物。这种技术已经用于药剂中水溶性维生素的测定[43]。最后，通过使两根电极工作在一个化合物HDV中的不同电压下，这样可以从提供定性信息的单个色谱分析中获得伏安法数据[42]，例如具有铂基团的抗肿瘤药物的分析[44]。

双电极薄层池的第三种结构同样见图6，这种形状称为平行相对结构，能够通过氧化还原循环增强可逆化合物的响应。当被测物从氧化态循环至还原态时，发生转移的电子比使用单工作电极时要多得多，因此电流响应大大增强。可惜的是，采用传统的液相系统，通过化学电池的流速过快，导致无法产生大量的氧化还原循环。Goto等[45]使用间隔30μm，长1cm的双电极，以20μL/min的流速流过微孔径液相色谱柱，从而使响应值放大了20倍。随着人们对微孔径液相色谱以及相关低流速的认识加深，这个概念的实际应用会越来越多。

大多数LCEC实验直接采用电极中的电流响应进行定量，将两根电极中的响应值结合成一个响应差是可行的。人们已经描述了在各种模式下使用串联和并联结构的双电极检测器进行LCEC实验的许多优点[46]。采用并联结构，电极在一定区域的电压下工作，这个区域内的电流响应主要取决于电位（也就是$E_{1/2}$）。被测物中得到的响应差，与在较高电位下工作的单根电极中得到的响应值相差不大。然而，难以和易于发生氧化反应的化合物的响应差却大大降低。实质上，并联结构的差值检测模式建立了一个“电位窗”，只有那些电流响应发生变化的化合物才能通过电位窗。LCEC中的基线干扰主要来源，如流速、温度波动、静电放电以及流动相组分的改变等，是通用模式（也就是同时存在于两根电极中）。差值检测模式能够有效地提高信号质量，因为这类干扰信号在差值信号中被大大削弱。

采用串联结构，两根电极在相同的电位下工作，电位值位于被测物的极限电流平台中。因为被测物的扩散层在上游电极中耗尽，所以下游的响应大大削弱，得到的响应差与上游的单响应值几乎相同。然而，基线干扰产生的信号由于信噪比的大幅度提高而大大削弱。因为这种模式建立在质量转移的基础之上，而不是电化学上，所以相对于单电极工作，选择性不会发生变化。

5. 转换效率

根据池设计和流速，电化学检测器能够使进入池内物质的5%至将近100%发生电解。实际上，使用一个大表面积的电极，可以获得高效率。当电极表面积增加时，每个

增加的增量对总信号的贡献不成比例，但对背景的贡献却大致相同。当背景噪声与背景电流大致成比例时，信噪比随电极表面积增大而降低。因此，尽管高效率检测器得到的被测物的绝对响应值更大，但是检测限不会更出色，通常比转换效率只有10%～20%的检测器还要差。转换效率为100%的检测器可以用于无标准物质被测物的定量分析。如果已知电化学反应中的电子数，同时色谱峰达到基线分离，能够准确测定峰面积，那么可以通过法拉第定律直接计算被测物的量。这在实际应用中不是非常普遍。

6. 伏安检测法

为了获得比安培检测器得到的信息更加完整的伏安信息，人们已经开发出用于液相色谱的各种电位扫描检测器。比如用于线性扫描和循环伏安法的简单线性斜波，对于液相色谱检测没有多少用途。因为LC检测器中被测物的信号电流相对较小，所以双层充电电流容易使伏安信息变得不明显。此外，用于液相色谱检测器的电池内阻力通常很大，会形成明显的 iR 降，从而歪曲了伏安图。

为了解决这些问题，大多数伏安检测器使用脉冲波形，比如阶梯状[47]、方波状[48]和差分脉冲[49]。充电电流衰变以后，电流在脉冲的末端采集。此外，由于充电电流通常是主要的电流源，iR 问题并不严重。Last[50]描述了一种库仑静态检测器，用电荷脉冲代替电位脉冲，消除了 iR 和充电电流等问题。采用这些脉冲技术，伏安检测法无法获得简单安培检测器可以轻松得到的检测限。White等[51]描述了一种采用纤维微电极的伏安检测器，其充电电流大大降低。可惜的是，这种检测器只能用于空心液相色谱柱系统。

人们设计出一种独特的伏安检测器[52]，使用一个串联双电极池。在这种检测器中，上游电极用于电位扫描，下游电极则用于监测发生在上游电极中且无充电电流产生的氧化还原反应。实际上，上游电极以伏安法方式工作，下游电极以安培法方式工作，因此这种检测器被称为伏安-安培检测器。有报道称这种检测器的检测限为10^{-7} mol/L。

酶联电化学技术

采用伏安法和安培测定法监测酶催化反应，这是生物电化学研究中一个极热门的领域。尽管采用液相色谱法能够提供选择性，但是使用酶来产生电活性产物，可以为电分析技术提供专属性。实际上，酶就是作为一种衍生化试剂，将无电活性物质转变为电活性物质。电化学法已经成为一种灵敏的方法，来跟踪酶反应，测定酶活性。采用电化学检测的酶联免疫测定（在“电化学免疫测定”中讨论）已有报道，与其他酶联电化学技术相比，表现出更加出色的专属性和灵敏度。

酶联电化学技术可以通过两种基本途径来实现：第一种途径是采用流体动力技术，如流动注射分析（FIAEC）或者液相色谱（LCEC），酶反应在反应器中离线或者在线进行，先于安培检测器。第二种途径是将酶固定在电极中。流体动力技术为酶作用物和酶的传输和混合，随后传输酶作用物到电极中以及样品的快速周转提供了一种方便有效的方法。酶系统的动力学也可以通过流体动力技术轻松研究。将酶固定于电极中，可以得到一个适用于体内分析的简单系统。同时，当酶非常接近电极时，酶产物从酶活性点到电极表面的传输大大增强。酶电极是生物电化学分析中一种极重要的领域，参考文献中有许多综述文献[53～55]。

各种各样的酶已经用于与电化学技术的联合，唯一要求是反应过程中生成电活性产物，可以来自于酶作用物或作为辅助因子（也就是NADH）。在大多数情况下，检测到的电活性产物是氧、过氧化氢、NADH或者铁/亚铁氰化物。某些工作者使用传统比色法中的染料介质，因为这些染料通常也具有电活性。尽管必须要形成电活性产物，但是直接从研究的酶反应中生成却是不必要的。采用几种酶联反应，可以使电化学技术应用在任何酶系统的可行性更大。

1. 离线技术

采用酶联反应进行电化学检测的最简单方法是，使用FIAEC或LCEC来监测离线反应。酶反应在试管中进行，在一定条件下，每间隔一定时间定量加入试样。然后这些试样被用来分析电活性产物，样品中酶活性可以通过得到的动力学信息进行计算。因为LCEC对神经化学分析存在固有影响，所以许多早期酶联电化学方法使用的是神经学中的重要酶，这就不足为奇了。此外，药物中脂肪酶的活性已经通过电化学方法进行测定[56]。

除了酶活性以外，无电活性物质的浓度也可以通过电化学技术进行测定。将酶作用物（被测物）作为限制试剂，这样生成的产物量与酶作用物的初始浓度直接相关。动态测量和平衡测量都可以使用。通常使用能产生NADH的酶，因为NADH很容易被电化学检测器检测。药物中的葡萄糖苷酸及其硫酸盐代谢物[57]、原药中的卵磷脂[58]已经采用LCEC通过离线酶反应进行测定。

2. 酶反应器

将整个分析系统（酶反应和电化学检测）合并到流动系统中，这样精密度就可以大大提高。样品操作被简单化，因为相对于离线方法中的分部进样，该方法只需向流动系统中单次进样。精密度同时也得到提高，因为在流动系统中，酶反应时间和检测时间更加容易控制。最后，在线酶反应方法只需要使用少量的酶和样品。

酶反应器的最简单设计仅仅是使酶作用物和酶保持在两条缓冲液流中，两条液流合并后流经一个反应延迟圈（图7）。延迟圈可以加工成合适的长度，这样可以使酶作用物完全转换为酶产物，或者达到所希望的转换率。电化学检测器置于延迟圈之后。这种设计的效率很高，因为即使可能需要几分钟的反应时间，但是多个样品能够同时存在于液流之中。Potter等[59]通过乙酰胆碱酯酶和胆碱氧化酶生成过氧化氢，来测定胆碱和乙酰胆碱。生成的过氧化氢

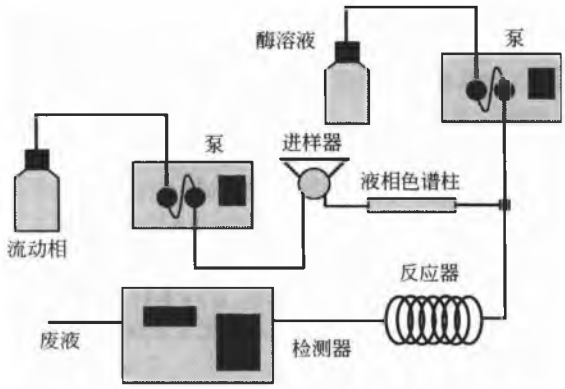


图 7 采用在线酶反应器的 LCEC 系统示意图

在铂电极中以安培法检测，而胆碱和乙酰胆碱在与酶混合之前先通过液相色谱进行分离。其他报道包括水杨酸羟化酶测定水杨酸[60]、甘油磷酰胆碱磷酸二酯酶孵化和随后的色谱柱后酶反应测定药物中来自于 L-α-甘油磷酰胆碱的胆碱[61]、β-葡萄糖酸苷酶测定非诺多泮中的葡萄糖苷酸[62]、硫酸酯酶测定非诺多泮中结合硫酸根[62]以及胆碱氧化酶测定胆碱[58]等。

将酶固定于反应器中，可以大大节约酶的消耗。除了只需要少量酶外，固定后通常还能提高酶的稳定性。固定化酶反应器（IER）的几种设计已经报道，最常用的是空心式和填充层式。空心式反应器具有低散射的特点，但是与酶接触的表面积相对较小。填充层式反应器提供了极大的表面积，在消耗更多散射的同时增强了质量传输。

3. 酶电极（生物传感器）

将酶反应与电化学联合的最后一种方法是，在电极表面直接固定一种生物催化材料。这种生物催化材料可以是固定化酶、细菌微粒或者组织切片，如图 8 所示。生物催化剂将酶作用物（被测物）转化为酶产物，后者通过电极进行测定。这类电极可以采用电位测定，也可以采用法拉第法测定，就是通常所说的生物传感器。

生物催化膜电极使生物传感器对被测定的整个有机酶作用物群主体均有响应，从而大大延伸了直接电位测定法的应用范围。这些传感器的选择性是生物催化剂对酶作用物选择性与 ISE 对样品中可能到达 ISE 膜表面的其他组分选择性的结合。因此，关于样品中其他有机组分的选择性可以通过生物催化剂的专属性进行测定，而关于样品中被测组分的选择性则由 ISE 所决定。

采用电位生物传感器的一个典型例子就是，用于 L-精氨酸的电极[63]。尿链球菌被固定在一种氨电极的气体渗透性膜中。由于精氨酸去亚氨酶对 L-精氨酸的高专属性，同时氨电极对氨的优良选择性，所以这种电极具有出色的选择性。这种电极对表面的氨浓度产生响应，氨浓度与样品中 L-精氨酸的浓度成正比。Nernstian 图的斜率为 40～45mV，线性范围为 1×10^{-4}～6.5×10^{-3} mol/L。这种电极对 L-精氨酸具有高选择性，当生物催化剂层中产生污垢时，开始对谷酰胺和天冬酰氨酸产生响应，选择性降低。在一定的储藏条件下，可以阻止污垢的生成[64]。这类生物传感器的工作范围通常仅覆盖 2～3 个数量级，检测限为 10^{-5}～10^{-4} mol/L。

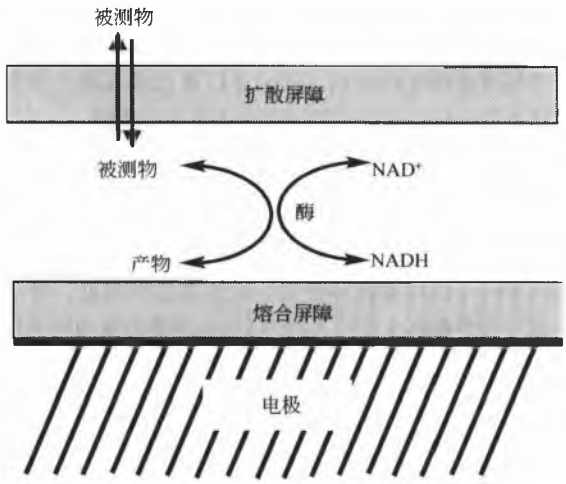


图 8 电化学生物传感器的示意图

细胞生物传感器与酶电极具有同等的响应特征，但是还具有其他优点[65]。

• 细菌群通常比单独的酶更加便宜，制备电极时不需要专属性的无菌培养。例如，人的牙斑可以制备用于 D-(+)-葡萄糖、D-(+)-甘露糖和 D-(−)-果糖的电极[66]。

• 酶活性在细菌电极中通常会增强，同时由于理想的环境，活性保持时间更长。因此，细菌电极的平均寿命为 20 天左右，而酶电极为 14 天。如果催化活性丧失，电极可以进行再生。

• 细菌容易影响需要辅助因子的复杂反应序列。例如，用于次氮基三乙酸（NTA）的电极实际上是唯一的，因为假单胞菌电极包含了执行反应序列所必需的所有酶和辅助因子，电极响应以这些反应序列为基础[67]。用于氨的气体电极对最后一步反应生成的氨产生响应，响应值与样品中 NTA 的浓度成正比。

生物催化膜电极的概念已经扩大到采用组织切片作为催化层[68]。这种方法的一个例子就是用于 AMP 的电极，由黏附于氨气电极上的兔肌肉切片组成[69]。氨由兔肌肉组分经酶作用于 AMP 反应产生，这种电极的线性范围为 (1.4×10^{-4})～(1.0×10^{-2}) mol/L，响应时间从 2.5～8.5min 不等，与浓度有关。当电极不用时，应保存在叠氮化钠缓冲液中以阻止细菌生成，使用寿命在 28 天左右。优异的选择性使其可以用于测定血清中的 AMP。

细菌电极和组织电极的选择性通常低于酶电极，因为细菌的许多组分可能会对多种酶作用物产生响应。这个问题可以通过使用特殊的抑制剂阻止干扰反应来加以解决。测定结束后这些电极也需要经过很长的恢复阶段（3～4h）。然而，这类电极却非常便宜，可以任意处置。大部分生物

催化膜电极置于含有改性剂或毒性试剂的样品中时，很容易受不可逆的活性损失影响。使用和储藏中的电极寿命难题阻碍了生物催化膜电极的商业发展。

建立在电极表面固定酶基础之上的电极在药学中的部分应用已有报道。Seegopaul 和 Rechnitz[70] 发明了二氧化碳电极，由于被测物对双氢叶酸还原酶的抑制作用，可对甲氨蝶呤产生响应。其他应用包括，采用 pH 电极测定青霉素被青霉素酶的消耗[71]、由尿素酶测定尿素[72]，以及由抗坏血酸氧化酶分析 L-抗坏血酸[73]。

固定酶的包衣已经用于 ISFET 装置中，使用方式与 ISE 相似。例如，包裹膜内固定青霉素酶的 ISFET 对青霉素具有响应，与前述的 ISE 相似[74]。酶与 pH 联用的 ISFET也已经用于尿素[75]、乙酰胆碱[75] 和葡萄糖[76] 的测定。

将酶反应与安培法探针结合，使电位电极具备了所有优点，包括更高的灵敏度。由于这个原因，人们开始致力于新型安培生物传感器的发明，包括药剂应用中的重要工作[77~84]。相关报道包括用于进行药物中多肽质量控制的双酶电极[85]，这种系统建立在酪氨酸酶对酪氨酸的氧化作用和醌蛋白葡萄糖脱氢酶的反向还原作用的基础之上。酶传感器的氧化还原循环降低了这种传感器的检测限，通常为 2×10^{-7}mol/L。此外，乳糖氧化酶对 L-对映异构体的自然选择性可以用于开发专属性的生物传感器，鉴别样品中外消旋体和对映异构体纯度[86]。

电化学免疫测定

抗体与抗原或半抗原之间的反应所固有的显著选择性，是免疫测定广泛使用的基础。将抗体或抗原/半抗原合并于传感应元件中得到的电极称为“免疫电极”（immunoelectrode）。免疫电极的响应建立在电极中传感元素与样品溶液中抗体或抗原/半抗原之间的免疫化学反应的基础之上。免疫测定法以使用一种抗体作为抗原或半抗原被测物的选择性化学试剂为基础。免疫测定法通常分为非均相（与抗体结合的抗原在测定过程中从自由抗原中分离出来）和均相（不存在分离步骤）两类。

历史上，大多数免疫测定法依赖于放射性同位素标记进行检测。为了避免使用放射性同位素，选择性标记得到发展。最成功的例子之一是使用酶标记，因而出现了酶联免疫测定法。在酶联免疫测定法中，酶作用物在抗原结合后加入，然后酶产物被检测，其浓度或者生成速率可以用来测定样品中抗原（被测物）的浓度。由于酶阶段提供了化学放大，所以酶联免疫测定法的灵敏度极高。化学放大是指酶作用物通过一种循环或放大机制生成大量酶产物的过程[87]。这样，痕量浓度的被测物就能够生成浓度较高的酶产物，实际测定的是后者，但是仍与被测物的初始浓度相关。电化学酶联免疫测定法是指使用电化学技术，检测由酶联免疫测定产生的酶产物的一种方法[88]。

1. 电位免疫测定法

传统的 ISE 已经用作免疫测定法的检测器。抗体结合测定可以通过半抗原选择电极，如三甲基苯胺离子电极[89]。用酶标记催化被 ISE 检测的酶产物生成的酶联免疫测定法，利用酶催化的放大效应实现低检测限。肝炎 B 表面抗原[90] 和雌二醇[91] 的系统采用山葵过氧化酶作为酶标记，以碘化物电极作为检测器。山葵过氧化酶催化对氯苯胺的氧化反应，以 ISE 检测氯离子。生物素[92] 和环状 AMP[93] 已经采用溶菌酶和尿素酶为标记测定。人类抗体（IgG）和过氧化酶标记的抗人类 IgG 抗体之间的免疫反应可以通过一种氟电极测定[94]。使用氨气感应膜电极[95] 进行电位检测，以及铵离子电极测定腺苷脱氨酶[96] 时，腺苷脱氨酶、天冬酰胺酸酶和尿素酶都已作为免疫测定中可行的酶标记。二氧化碳电极曾用于人类 IgG[97] 和地高辛[98] 的测定。

2. 非均相电流免疫测定法

大多数非均相免疫测定工作在竞争模式下，即标准标记抗原与样品抗原竞争有限数量的抗体位置。结合的标准抗原与样品抗原之比反映了样品中被测物的浓度。另一种广泛使用的测定模式是“三明治”免疫测定法。在这种模式下，抗原被夹在两种不同抗体之间，其中一种抗体被标记用于测定。三明治模式的专属性比竞争模式更强，因为使用了两种高选择性的抗体试剂，而不是一种。然而，三明治模式仅仅适用于那种同时结合两种抗体的大抗原。

几种非均相电化学酶联免疫测定法已经得到证明[99~101]，这些建立在酶联免疫吸收测定（ELISA）技术的基础之上，即抗体被固定在一种小体积塑料管的壁上。ELISE 技术可以采用竞争平衡模式或者三明治模式，两种模式都已经与电化学检测一并使用，两种模式的示意图见图 9。

非均相电化学酶联免疫测定法具有几个优点：检测限一般在低达 pg/mL 的范围内，是抗原抗体结合常数的函数，而不是其检测酶产物的能力。因为在加入酶作用物之前，样品从试剂管中被清洗掉，所以由样品中电活性组分产生的干扰，以及蛋白吸附可能引起的电极污染等问题都消除了。最后，这种技术理应易于实现常规样品分析的自动化。

3. 均相电流免疫测定法

均相免疫测定法依靠被标记抗原和抗体结合时发生的标记信号强度变化。当标记物是酶时，酶催化速率的降低是这种方法的基础。这项技术就是众所周知的 EMIT（酶增殖免疫测定技术）测定法。无须分离步骤，就可以将自由的标记抗原与结合抗原进行区别。

均相电化学酶联免疫测定法已经用于苯妥英[102] 和地高辛[103] 的测定。在这两个例子中，标记物为葡萄糖-6-磷酸盐脱氢酶，催化 NAD^+ 到 NADH 的反应，生成的 NADH 通过 LCEC 测定。许多其他均相电化学免疫测定法也已经报道[101,104]。

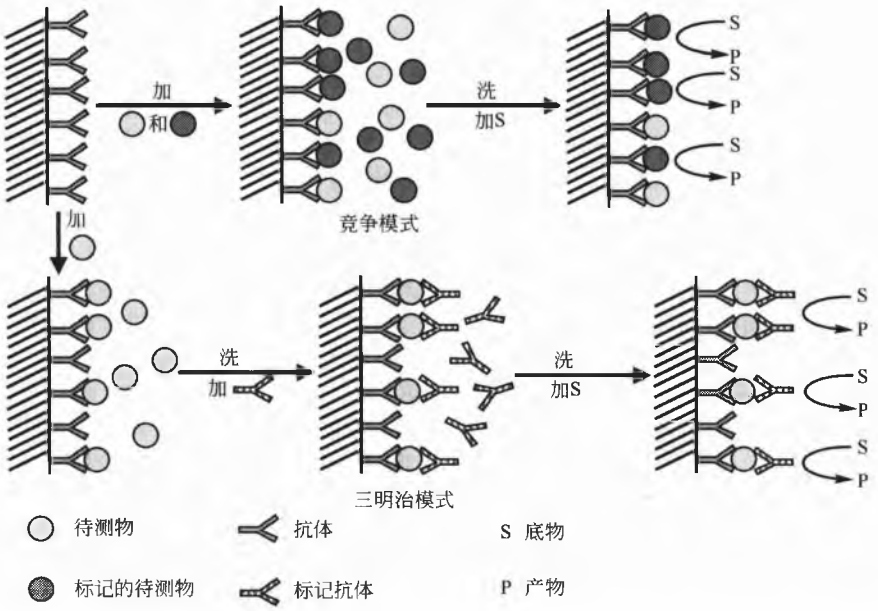


图 9 ELISA 在竞争模式和三明治模式下的示意图

与非均相免疫测定法比较，均相免疫测定法的主要优点是不需要分离步骤，这就使测定程序更简单、自动化更容易。然而，均相测定法的灵敏度通常较低，更容易受到分离步骤中除去的样品干扰物质的影响。

应用

1. 氧化应用

许多药物具有电活性，有些已经采用安培测定法进行测定。表 1 列出了一些采用电化学技术测定涉及药物的化合物。此外，Jane 等报道了大约 462 种具有电化学响应的基本药物[105]。

表 1 具有电活性结构组分且文献报道采用电化学测定的药物表

种类	化合物	电活性结构	参考文献
镇痛药	水杨酸	酚	[129]
	对乙酰氨基酚	酚	[129，132～137]
	可待因	酚	[139]
	吗啡	酚	[141]
	西拉马多	酚	[143]
	地佐辛	酚	[143]
	纳布啡	酚	[145]
	凯托米酮	酚	[146]
抗菌药	磺胺二甲嘧啶	芳香胺、杂环	[147]
	磺胺甲氧嘧啶	芳香胺、酚	[147]
	磺胺异噁唑	芳香胺	[147]
	磺胺甲噁唑	芳香胺	[147]
抗生素	林可霉素	杂环	[150]
	头孢菌素	杂环	[152]
	青霉素	杂环	[150]
	克拉霉素	杂环	[154]
	红霉素	杂环	[154]
	庆大霉素	杂环	[157]
抗抑郁药	苯哌利多	吲哚	[158]
	氟哌啶醇	芳香卤化物	[158，160]
	地昔帕明	杂环、肼	[130，131]
	阿米替林	胺	[130，131]
	丙咪嗪	杂环、胺	[130，131]
抗高血压药	双肼屈嗪	杂环	[138]
	吲哚拉明	吲哚	[140]
	伊拉地平	杂环	[142]
消炎镇痛药	二氟尼柳	酚	[144]
	吲哚美辛	酚、吲哚	[144]
	萘普生	酚	[144]
	吡罗昔康	杂环	[144]
	舒林酸	苯基亚砜	[144]
抗肿瘤药	表柔比星	酚	[148]
	多柔比星	酚	[148]
	Flavopiridol	酚	[149]
	顺铂	金属中心	[151]
抗精神病药	氯丙嗪	杂环	[153]
	阿利马嗪	杂环	[153]
	利培酮	杂环	[155]
	氟奋乃静	杂环	[161]

续表

种类	化合物	电活性结构	参考文献
	奋乃静	杂环	[161]
抗结核药	阿考烟肼	肼、酚	[156]
	异烟肼	肼	[156]
肌松药	替扎尼定	杂环	[159]
精神病药	氟奋乃静	杂环	[161]
	奋乃静	杂环	[161]

1.1 酚类

多数酚类化合物在碳电极中易被氧化。氧化电位变化范围很大，取决于环上羟基的数量和在环上的位置。生物医学和工业中的许多化合物具有酚结构，采用 LCEC 进行痕量分析非常普遍。

酚类化合物是与人体接触的异型生物质的主要来源，这些异型生物质以药物和环境污染物的形式存在。这些化合物的氧化代谢产物能够导致生理损害，因此这些代谢物成为研究的热门。LCEC 是通过细胞色素 P450 系统研究芳香族化合物代谢物的一种有力工具[106]。

1.2 芳香胺类

许多药物和环境污染物都属于芳香胺，比如苯酚，这类化合物通常在碳电极中被氧化。LCEC 已经用于研究源自于药物的芳香胺类代谢物[107]。

1.3 杂环化合物

生物医学研究的许多化合物，包括内源性的和外源性的，都具有杂环结构。这些化合物中很多在可以用于 LCEC 分析的电位处具有电活性。在 LCEC 应用的早期中，人们开发了测定抗坏血酸[108]和尿酸[109]的方法。重要的酶辅助因子，叶酸[110]、蝶呤[111]、生物素[112]和 NADH[113]都是电活性杂环化合物，已经用 LCEC 进行测定。

1.4 氨基酸和肽类

由于大多数氨基酸在可用的分析电位下没有电活性，所以目前的工作大多集中在通过电极表面修饰或者氨基酸衍生化作为检测氨基酸的通用方法。Kok 等[114]采用铜电极直接检测氨基酸。几种氨基酸的衍生化方法已有报道[115,116]。

鼠纹状体组织中五肽、met-和 leu-脑啡肽已经通过 LCEC 得到测定，采用玻碳电极[117]。这些肽可以直接测定，因为含有一种电活性酪氨酸残基。一系列内啡肽，也包括酪氨酸，已经采用 LCEC 测定[118]。

1.5 硫醇

硫醇在溶液中易被氧化为二硫化物，但是这个反应在大多数电极表面发生得非常缓慢。然而，可以利用硫醇和汞之间的特殊反应，在非常有利的电位下测定这类化合物。硫醇和汞形成了一种易被氧化的稳定络合物。实际上，反应中真正被氧化的是汞而不是硫醇。硫醇的 LCEC 测定采用 Au/Hg 汞齐电极[119]。使用一种串联双电极，硫醇和二硫化物在同一色谱条件下都能被测定[120,121]。此外，碳电极容易进行修饰，可以用于硫醇，以及许多化合物，包括钴酞菁[122]和六氰合铁酸镍[123]的测定。

2. 还原应用

LCEC 应用中大部分采用氧化检测，这可能是因为还原检测会遇到可预知的困难，特别是必须去除溶解的氧和痕量的金属离子，从而避免产生很高的背景电流。这些问题不难解决[124]，随着人们对还原检测认识的加深，这方面的应用也会相应增加。

2.1 硝基化合物

芳香族硝基和亚硝基化合物很容易在碳电极和汞电极中被还原，另一类硝基化合物（如硝酸酯、硝胺和亚硝胺）通常也容易被还原。硝基化合物完整的还原作用由三个双电子步骤（硝基到亚硝基到羟胺到氨）组成。因为大多数有机氧化作用只是双电子过程，所以硝基化合物的灵敏度通常更高。几种基于 LCEC 的硝基化合物测定已有报道[125]。

2.2 杂环化合物

涉及生物医学研究的一些杂环化合物具有还原性。其中，K 族维生素[126]和蝶呤[126]已经采用 LCEC 测定。一些杂环药物也已经采用还原性 LCEC 进行测定[127,128]。

未来趋势

微芯片制造技术在分析化学中的应用，促进了更小型分析仪器的发展。因为当仪器小型化时，电化学检测的性能不会降低，所以将电极整合到微型仪器中已经得到更多关注。微型分析系统的最大优势之一就是能够同时执行大量的平行分析。因为组合化学为建立成千上万个化合物的分析库提供了一种途径，所以就需要大幅度提高微型电化学仪器的屏幕输出能力，从而需要能够同时测定多个被测物。这个领域的发展希望得到更加耐用的电化学检测器，进一步减少被测物和溶剂的消耗，缩短分析时间，提供简单的一次性的仪器系统。微型分离联用电化学仪器的另一个潜在的有效应用是常规分析。因为进行质量控制的分析方法通常受到易于在生产现场使用的限制。可重复制造、一次性的、集成的电化学仪器将简化校正，分析人员无须移动和擦洗电极。

随着更便宜、更可靠的商品化仪器的出现，液相质谱联用技术正迅速成为工业标准。不过，电化学法在药物分析中的地位已经得到确立，在被测物浓度低、样品体积小，或者需要高专属性的复杂样品基体等应用中，很可能继续被优先使用。

Y

参考文献

1. Hassan, S. S. M.; El-Bahnasawy, R. M.; Rizk, N. M. Membrane sensors for batch and flow injection potentiometric determination of ethamsylate (cyclonamine) in pharmaceutical preparations. Mikrochim. Acta 1997, 126, 217—222.
2. Elnemma, E. M.; Hamada, M. A. Plastic membrane electrodes for the potentiometric determination of codeine in pharmaceutical preparations. Mikrochim. Acta 1997, 126, 147—151.
3. Badawy, S. S.; Issa, Y. M.; Tag-Eldin, A. S. Potentiometric determination of L-dopa, carbidopa, methyldopa, and aspartame using a new trinitrobenzenesulfonate selectve electrode. Electroanalysis 1996, 8, 1060—1064.
4. Panagos, D. S.; Koupparis, M. A. Construction of an iopanoic acid ion-selective electrode and its application to pharmaceutical analysis. Analyst 1995, 120, 1643—1646.
5. Solich, P.; Macheras, P. E.; Koupparis, M. A. Construction of a diflunisal ion sensor and its use in automated flowinjection methods for assay content uniformity, and dissolution studies of formulations. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 889—894.
6. Menon, S. K.; Sathyapalan, A.; Agrawal, Y. K. Ion selective electrodes in pharmaceutical analysis—A review. Rev. Anal. Chem. 1997, 16, 333—353.
7. Stefan, R.-I.; Baiulescu, G.-E.; Aboul-Enein, H. Y. Ionselective membrane electrodes in pharmaceutical analysis. Crit. Rev. Anal. Chem. 1997, 27, 307—321.
8. Kauffmann, J.-M.; Pekli-Novak, M.; Nagy, A. The potential of electroanalytical techniques in pharmaceutical analysis. Acta Pharm. Hung. 1996, 66, 57—64.
9. Khalil, S.; Borham, N. Phenothiazine drug poly (vinyl chloride) matrix membrane electrodes and their use in pharmaceutical analysis. Microchem. J. 1999, 63, 389—397.
10. Yuwono, M.; Ebel, S. Determination of fluoride impurities in calcium ascorbate. Comparison of gas chromatography and ion selective electrode potentiometry. Arch. Pharm. 1997, 330, 348—352.
11. Hartofylax, V. H.; Efstathiou, C. E.; Hadjiioannou, T. P. Kinetic study of the tartaric acid-periodate reaction: determination of tartaric acid using an improved periodateselective electrode. Microchem. J. 1986, 33, 9—17.
12. Atta-Politou, J.; Koupparis, M.; Macheras, P. Development of a potentiometric kinetic method for drug adsorption studies: The chlorpromazine-charcoal model case. Eur. J. Pharm. Sci. 1996, 4, 223—230.
13. Mitsana-Papazoglou, A.; Diamandis, E. P.; Hadjiioannou, T. P. Ion-selective electrodes for the H_2-receptor antagonists cimetidine and ranitidine. J. Pharm. Sci. 1987, 76, 485—491.
14. Cunningham, L.; Freiser, H. Ion-selective electrodes for some β-adrenergic and calcium blockers. Anal. Chim. Acta 1984, 157, 157—162.
15. Bergveld, P. The development and application of FET-based biosensors. Biosensors 1986, 2, 15—33.
16. Campanella, L.; Aiello, L.; Colapicchioni, C.; Tomassetti, M. Lidocaine and benzalkonium analysis and titration in drugs using new ISFET devices. J. Pharm. Biomed. Anal. 1998, 18, 117—125.
17. Su, Y.; Tomassetti, M.; Sammartino, M. P.; Crescentini, G.; Campanella, L. A new salicylate ISFET for the determination of salicylic and acetylsalicylic acid in drugs. J. Pharm. Biomed. Anal. 1995, 13, 449—457.
18. Campanella, L.; Battilotti, M.; Borraccino, A.; Colapicchioni, C.; Sammartino, M. P.; Tomassetti, M. Cholanic acids determined in commercial drugs by means of a new ISFET device. J. Pharm. Biomed. Anal. 1993, 11, 1207—1214.
19. LaCourse, W. R.; Dasenbrock, C. O. High-performance liquid chromatography-pulsed electrochemical detection for the analysis of antibiotics. Adv. Chromatogr. 1998, 38, 189—232.
20. Eap, C. B.; Baumann, P. Analytical methods for the quantitative determination of selective serotonin reuptake inhibitors for therapeutic drug monitoring purposes in patients. J. Chromatogr. B: Biomed. Appl. 1996, 686, 51—63.
21. Bersier, P. M.; Bersier, J. Polarographic, voltammetric, and HPLC-EC of pharmaceutically relevant cyclic compounds. Electroanalysis 1994, 6, 171—191.
22. Kissinger, P. T.; Radzik, D. M. Liquid chromatography/ electrochemistry in pharmaceutical analysis. Drugs Pharm. Sci. 1991, 47, 65—100.
23. Kissinger, P. T.; Refshauge, C.; Dreiling, R.; Adams, R. N. Electrochemical detector for liquid chromatography with picogram sensitivity. Anal. Lett. 1973, 6, 465—477.
24. Fleet, B.; Little, C. J. Design and evaluation of electrochemical detectors for HPLC [high-pressure liquid chromatography]. J. Chromatogr. Sci. 1974, 12, 747—752.
25. Blaedel, W. J.; Schieffer, G. W. A hydrodynamic voltammetric study of the ferricyanide/ferrocyanide system with convective electrodes of platinum, gold, glassy carbon, carbon film, and boron carbide. J. Electroanal. Chem. Inter. Electrochem. 1977, 80, 259—271.

26. Armentrout, D. N.; McLean, J. D.; Long, M. W. Trace determination of phenolic compounds in water by reversed phase liquid chromatography with electrochemical detection using a carbon-polyethylene tubular anode. Anal. Chem. 1979, 51, 1039—1045.
27. Koile, R. C.; Johnson, D. C. Electrochemical removal of phenolic films from a platinum anode. Anal. Chem. 1979, 51, 741—744.
28. Messner, J. L.; Engstrom, R. C. Capillary packed-bed electrodes for microanalysis. Anal. Chem. 1981, 53, 128—130.
29. Knecht, L. A.; Guthrie, E. J.; Jorgenson, J. W. On-column electrochemical detector with a single graphite fiber electrode for open-tubular liquid chromatography. Anal. Chem. 1984, 56, 479—482.
30. Andrews, R. W.; Schubert, C.; Morrison, J.; Zink, E. W.; Matson, W. R. Dual electrode cells for LCEC: recent developments. Am. Lab. (Fairfield, CT) 1982, 14, 140—151.
31. Roston, D. A.; Kissinger, P. T. Series dual-electrode detector for liquid chromatography/electrochemistry. Anal. Chem. 1982, 54, 429—434.
32. Yuan, Y.-S.; Shen, M. Study on pharmacokinetics and bioavailability of terbutaline by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chin. Pharm. Sci. 1994, 3, 152—156.
33. Whelpton, R.; Fernandes, K.; Wilkinson, K. A.; Goldhill, D. R. Determination of paracetamol (acetaminophen) in blood and plasma using high performance liquid chromatography with dual electrode coulometric quantification in the redox mode. Biomed. Chromatogr. 1993, 7, 90—93.
34. Zhou, J.; Wang, E. Direct detection of acetaminophen in urine by liquid chromatography with electrochemical detection using dual electrodes. Preliminary application to a single-dose pharmacokinetic study. Anal. Chim. Acta 1990, 236, 293—298.
35. Pagliari, R.; Cottet-Emard, J. M.; Peyrin, L. Determination of free and conjugated normetanephrine and metanephrine in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1991, 563, 23—36.
36. Lawrence, G. D.; Yatim, N. Extraction of physostigmine from biologic fluids and analysis by liquid chromatography with electrochemical detection. J. Pharmacol. Meth. 1990, 24, 137—143.
37. Morishima, K.; Tahara, R.; Horiuchi, M. Determination of a new calcium antagonist, sesamodil fumarate (SD—3211), and its metabolite in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1990, 527, 381—388.
38. Egros, F.; Moulin, A.; Le Dily, J.; Dufour, A. Routine determination of a new 1,4-dihydropyridine, oxodipine, in human plasma by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Liq. Chromatogr. 1990, 13, 1001—1011.
39. Demotes-Mainaird, F. M.; Vincon, G. A.; Jarry, C. H.; Albin, H. C. Micromethod for the determination of roxithromycin in human plasma and urine by highperformance liquid chromatography using electrochemical detection. J. Chromatogr. 1989, 490, 115—123.
40. Lunte, C. E.; Kissinger, P. T. Investigation of 6-methylpterin electrochemistry by dual-electrode liquid chromatography/ electrochemistry. Anal. Chem. 1984, 56, 658—663.
41. Lunte, C. E.; Kissinger, P. T. Determination of the oxidized and reduced forms of biopterin in tissue samples. J. Liq. Chromatogr. 1983, 6, 1863—1872.
42. Lunte, C. E.; Kissinger, P. T. Determination of pterins in biological samples by liquid chromatography/electrochemistry with a dual-electrode detector. Anal. Chem. 1983, 55, 1458—1462.
43. Hou, W.; Wang, E. Determination of water-soluble vitamins by liquid chromatography with a parallel dual-electrode electrochemical detector. Talanta 1990, 37, 841—844.
44. Ding, X. D.; Krull, I. S. Dual electrode liquid chromatography -electrochemical detection (LCEC) for platinumderived cancer chemotherapy agents. J. Liq. Chromatogr. 1983, 6, 2173—2194.
45. Goto, M.; Zou, G.; Ishii, D. Current amplification in dual electrochemical detection for micro high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 1983, 268, 157—167.
46. Lunte, C. E.; Kissinger, P. T.; Shoup, R. E. Difference mode detection with thin-layer dual-electrode liquid chromatography/electrochemistry. Anal. Chem. 1985, 57, 1541—1546.
47. Caudill, W. L.; Ewing, A. G.; Jones, S.; Wightman, R. M. Liquid chromatography with rapid scanning electrochemical detection at carbon electrodes. Anal. Chem. 1983, 55, 1877—1881.
48. Samuelsson, R.; O'Dea, J.; Osteryoung, J. Rapid scan square wave voltammetric detector for high-performance liquid chromatography. Anal. Chem. 1980, 52, 2215—2216.
49. Wang, J.; Dewald, H. D. Potential scanning voltammetric detection for flow injection systems. Anal. Chim.

Y

Acta 1983, 153, 325—330.

50. Last, T. A. Coulostatic voltammetric liquid chromatography detector. Anal. Chem. 1983, 55, 1509—1512.
51. White, J. G.; St. Claire, R. L., III; Jorgenson, J. W. Scanning on-column voltammetric detector for open-tubular liquid chromatography. Anal. Chem. 1986, 58, 293—298.
52. Lunte, C. E.; Wong, S.; Chan, K. W.; Ridgway, T. H.; Heineman, W. R. Voltammetric/amperometric detection for flow-injection systems. Anal. Chim. Acta 1986, 188, 263—267.
53. De Oliveira Neto, G.; Junior, L. R.; Kubota, L. T. Electrochemical biosensors for salicylate and its derivatives. Electroanalysis 1999, 11, 527—533.
54. Wang, J. Amperometric biosensors for clinical and therapeutic drug monitoring: a review. J. Pharm. Biomed. Anal. 1999, 19, 47—53.
55. Harwood, G. W. J.; Pouton, C. W. Amperometric enzyme biosensors for the analysis of drugs and metabolites. Adv. Drug Deliv. Rev. 1996, 18, 163—191.
56. Fuse, T.; Oda, G.; Arai, K.; Takamura, K.; Kusu, F. Electrochemical determination of lipase activity in pharmaceutical preparations. Electrochim. Acta 2000, 45, 2933—2937.
57. van der Geest, R.; Kruger, P.; Gubbens-Stibbe, J. M.; van Laar, T.; Bodde, H. E.; Danhof, M. Assay of R-apomorphine, S-apomorphine, apocodeine, isoapocodeine and their glucuronide and sulfate conjugates in plasma and urine of patients with Parkinson's disease. J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1997, 702, 131—141.
58. Yamasaki, K.; Kikuoka, M.; Nishi, H.; Kokusenya, Y.; Miyamoto, T.; Matsuo, M.; Sato, T. Contents of lecithin and choline in crude drugs. Chem. Pharm. Bull. 1994, 42, 105—107.
59. Potter, P. E.; Meek, J. L.; Neff, N. H. Acetylcholine and choline in neuronal tissue measured by HPLC with electrochemical detection. J. Neurochem. 1983, 41, 188—194.
60. Neumayr, M.; Friedrich, O.; Sontag, G.; Pittner, F. Flowinjection analysis with electrochemical detection for determination of salicyclic acid in pharmaceutical preparations. Anal. Chim. Acta 1993, 273, 469—475.
61. Abbiati, G.; Fossati, T.; Arrigoni, M.; Rolle, P.; Dognini, G. L.; Castiglioni, C. High-performance liquid chromatographic assay of L-α-glycerophosphorylcholine using a two-step enzymic conversion. J. Chromatogr. 1991, 566, 445—451.
62. Boppana, V. K.; Lynn, R. K.; Ziemniak, J. A. Immobilized sulfatase: β-glucuronidase enzymes for the qualitative and quantitative analysis of drug conjugates. J. Pharm. Sci. 1989, 78, 127—131.
63. Rechnitz, G. A.; Kobos, R. K.; Riechel, S. J.; Gebauer, C. R. A bio-selective membrane electrode prepared with living bacterial cells. Anal. Chim. Acta 1977, 94, 357—365.
64. Corcoran, C. A.; Kobos, R. K. Selectivity enhancement of a bacterial arginine electrode. Anal. Lett. 1983, 16, 1291—1302.
65. Corcoran, C. A.; Rechnitz, G. A. Cell-based biosensors. Trends Biotechnol. 1985, 3, 92—96.
66. Grobler, S. R.; Rechnitz, G. A. Determination of D-(+)-glucose D-(+)-mannose, D-(+)-galactose, or D-(−)-fructose in amixture of hexoses and pentoses by use of dental plaque coupled with a glass electrode. Talanta 1980, 27, 283—285.
67. Kobos, R. K.; Pyon, H. Y. Application of microbial cells as multistep catalysts in potentiometric biosensing electrodes. Biotechnol. Bioeng. 1981, 23, 627—633.
68. Rechnitz, G. A. Bioselective membrane electrode probes. Science 1981, 214, 287—291.
69. Arnold, M. A.; Rechnitz, G. A. Tissue-based membrane electrode with high biocatalytic activity for measurement of adenosine 5′-monophosphate. Anal. Chem. 1981, 53, 1837—1842.
70. Seegopaul, P.; Rechnitz, G. A. Enzyme-amplified determination of methotrexate with a pCO_2 membrane electrod. Anal. Chem. 1984, 56, 852—854.
71. Meier, H.; Tran Minh, C. Determination of penicillin-V in standard solution and in fermentation broth by flowinjection analysis using fast-responding enzyme glass electrodes in different detection cells. Anal. Chim. Acta 1992, 264, 13—22.
72. Koncki, R.; Chudzik, A.; Walcerz, I. Urea determination using pH-enzyme electrode. J. Pharm. Biomed. Anal. 1999, 21, 51—57.
73. Fernandes, J. C. B.; Kubota, L. T.; Neto, G. d. O. Potentiometric biosensor for L-ascorbic acid based on ascorbate oxidase of natural source immobilized on ethylene-vinylacetatemembrane. Anal. Chim. Acta 1999, 385, 3—12.
74. Caras, S.; Janata, J. Field effect transistor sensitive to penicillin. Anal. Chem. 1980, 52, 1935—1937.
75. Miyahara, Y.; Matsu, F.; Moriizumi, T.; Matsuoka, H.; Karube, I.; Suzuki, S. Micro enzyme sensors using semiconductor and enzyme-immobilization techniques. Anal. Chem. Symp. Ser. 1983, 17, 501—506.
76. Hanazato, Y.; Shiono, S. Bioelectrode using two hydro-

gen ion-sensitive field-effect transistors and a platinum wire pseudo reference electrode. Anal. Chem. Symp. Ser. 1983, 513—518.

77. Aboul-Enein, H. Y.; Stefan, R.-I.; Radu, G.-L. Biosensor for enantioselective analysis of S-cilazapril, Strandolapril, and S-pentopril. Pharm. Dev. Technol. 1999, 4, 251—255.
78. Akyilmaz, E.; Dinckaya, E. A new enzyme electrode based on ascorbate oxidase immobilized in gelatin for specific determination of L-ascorbic acid. Talanta 1999, 50, 87—93.
79. Campanella, L.; Favero, G.; Persi, L.; Tomassetti, M. New biosensor for superoxide radical used to evidence molecules of biomedical and pharmaceutical interest having radical scavenging properties. J. Pharm. Biomed. Anal. 2000, 23, 69—76.
80. Campanella, L.; Favero, G.; Tomassetti, M. Direct determination of nicotine in antismoking pharmaceutical products and in tobacco using an inhibition biosensor. Anal. Lett. 2001, 34, 855—866.
81. De Carvalho, R. M.; Neto, G. d. O.; Kubota, L. T. Microbiosensor for salicylate based on modified carbon fiber. Anal. Lett. 2000, 33, 425—442.
82. Lenigk, R.; Lam, E.; Lai, A.; Wang, H.; Han, Y.; Carlier, P.; Renneberg, R. Enzyme biosensor for studying therapeutics of Alzheimer's disease. Biosens. Bioelectron. 2000, 15, 541—547.
83. Martin, C.; Dominguez, E. A new enzyme electrode for quantification of salicylic acid in an FIA system. J. Pharm. Biomed. Anal. 1999, 19, 107—113.
84. Saurina, J.; Hernandez-Cassou, S.; Alegret, S.; Fabregas, E. Amperometric determination of lysine using a lysine oxidase biosensor based on rigid-conducting composites. Biosens. Bioelectron. 1999, 14, 211—220.
85. Eremenko, A. V.; Makower, A.; Bauer, C. G.; Kurochkin, I. N.; Scheller, F. W. A bienzyme electrode for tyrosine-containing peptides determination. Electroanalysis 1997, 9, 288—292.
86. Cunningham, D. D.; Stephens, D. Analysis of the enantiomeric purity of lactate with an enzyme electrode. Anal. Lett. 1992, 25, 1813—1821.
87. Blaedel, W. J.; Boguslaski, R. C. Chemical amplification in analysis: a review. Anal. Chem. 1978, 50, 1026—1032.
88. Halsall, H. B.; Heineman, W. R. Electrochemical immunoassay: an ultrasensitive method. J. Int. Fed. Clin. Chem. 1990, 2, 179—187.
89. Meyerhoff, M.; Rechnitz, G. A. Antibody binding measurements with hapten-selective membrane electrodes. Science 1977, 195, 494—495.
90. Boitieux, J. L.; Desmet, G.; Thomas, D. Potentiometric determination of hepatitis B surface antigen in biological fluids. Clin. Chem. Acta 1978, 88, 329—336.
91. Boitieux, J. L.; Lemay, D.; Desmet, G.; Thomas, D. Use of solid phase biochemistry for potentiometric enzymemmunoassay of 17β-estradiol-preliminary report. Clin. Chem. Acta 1981, 113, 175—182.
92. Gebauer, C. R.; Rechnitz, G. A. Ion selective electrode estimation of avidin and biotin using a lysozyme label. Anal. Biochem. 1980, 103, 280—284.
93. Meyerhoff, M. E.; Rechnitz, G. A. Electrode-based enzyme immunoassays using urease conjugates. Anal. Biochem. 1979, 95, 483—493.
94. Alexander, P. W.; Maltra, C. Enzyme-linked immunoassay of human immunoglobulin G with the fluoride ion selective electrode. Anal. Chem. 1982, 54, 68—71.
95. Gebauer, C. R.; Rechnitz, G. A. Deaminating enzyme labels for potentiometric enzyme immunoassay. Anal. Biochem. 1982, 124, 338—348.
96. Brontman, S. B.; Meyerhoff, M. E. Homogeneous enzymelinked assays mediated by enzyme antibodies; A new approach to electrode-based immunoassays. Anal. Chim. Acta 1984, 162, 363—367.
97. Fonong, T.; Rechnitz, G. A. Homogeneous potentiometric enzyme immunoassay for human immunoglobulin G. Anal. Chem. 1984, 56, 2586—2590.
98. Keating, M. Y.; Rechnitz, G. A. Potentiometric enzyme immunoassay for digoxin using polystyrene beads. Anal. Lett. 1985, 18, 1—10.
99. Frankfurt, O. S.; Krishan, A. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the specific detection of apoptotic cells and its application to rapid drug screening. J. Immunol. Meth. 2001, 253, 133—144.
100. Walshe, K.; Barrett, A. M.; Kavanagh, P. V.; McNamara, S. M.; Moran, C.; Shattock, A. G. A sensitive immunoassay for flunitrazepam and metabolites. J. Anal. Toxicol. 2000, 24, 296—299.
101. Le Gal La Salle, A.; Limoges, B.; Rapicault, S.; Degrand, C.; Brossier, P. New immunoassay techniques using Nafionmodified electrodes and cationic redox labels or enzyme labels. Anal. Chim. Acta 1995, 311, 301—308.
102. Wehmeyer, K. R.; Doyle, M. J.; Wright, D. S.; Eggers, H. M.; Halsall, H. B.; Heineman, W. R. Liquid chromatography with electrochemical detection of phenol and NADH for enzyme immunoassay. J. Liq. Chromatogr. 1983, 6, 2141—2156.
103. Wright, D. S.; Halsall, H. B.; Heineman, W. R. Di-

Y

goxin homogeneous enzyme immunoassay using high-performance liquid chromatographic column switching with amperometric detection. Anal. Chem. 1986, 58, 2995—2998.

104. Limoges, B.; Degrand, C.; Brossier, P.; Blankespoor, R. L. Homogeneous electrochemical immunoassay using a perfluorosulfonated ionomer-modified electrode as detector for a cationic-labeled hapten. Anal. Chem. 1993, 65, 1054—1060.
105. Jane, I.; McKinnon, A.; Flanagan, R. J. High-performance liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents II. Application of UV, fluorescence and electrochemical oxidation detection. J. Chromatogr. 1985, 323, 191—225.
106. Lunte, S. M.; Kissinger, P. T. Detection and identification of sulfhydryl conjugates of p-benzoquinone in microsomal incubations of benzene and phenol. Chem. Biol. Interact. 1983, 47, 195—212.
107. Radzik, D. M.; Brodbelt, J. S.; Kissinger, P. T. Determination of toxic azo dye metabolites in vitro by liquid chromatography/electrochemistry with a dual-electrode detector. Anal. Chem. 1984, 56, 2927—2931.
108. Pachla, L. A.; Kissinger, P. T. Determination of ascorbic acid in foodstuffs, pharmaceuticals, and body fluids by liquid chromatography with electrochemical detection. Anal. Chem. 1976, 48, 364—367.
109. Pachla, L. A.; Kissinger, P. T. Estimation of serum uric acid by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. Clin. Chim. Acta 1975, 59, 309—312.
110. Lankelma, J.; VanDerKleijn, E.; Jansen, M. J. T. Determination of 5-methyltetrahydrofolic acid in plasma and spinal fluid by high-performance liquid chromatography, using on-column concentration and electrochemical detection. J. Chromatogr. 1980, 182, 35—45.
111. Lunte, C. E.; Kissinger, P. T. Study of the tautomerization of quinonoid dihydropterins by liquid chromatography/electrochemistry. Anal. Chim. Acta 1984, 158, 33—41.
112. Kamata, K.; Hagiwara, T.; Takahaski, M.; Uehara, S.; Nakayama, K.; Akiyama, K. Determination of biotin in multivitamin pharmaceutical preparations by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1986, 356, 326—330.
113. Davis, G. C.; Holland, K. L.; Kissinger, P. T. Ampero-metric methods for oxidoreductase enzymes based on liquid chromatography with electrochemical detection. Alcohol dehydrogenase. J. Liq. Chromatogr. 1979, 2, 663—675.
114. Kok, W. T.; Brinkman, U. A. T.; Frei, R. W. Amperometric detection of amino acids in high-performance liquid chromatography with a copper electrode. J. Chromatogr. 1983, 256, 17—26.
115. Jacobs, W. A.; Kissinger, P. T. Nitroaromatic reagents for determination of amines and amino acids by liquid chromatography/electrochemistry. J. Liq. Chromatogr. 1982, 5, 881—895.
116. Allison, L. A.; Myer, G. S.; Shoup, R. E. The o-phthalaldehyde derivatives of amines for high-speed liquid chromatography/ electrochemistry. Anal. Chem. 1984, 56, 1089—1096.
117. Carlsson, A.; Lundstrom, K. An amperometric detector for use with small-bore liquid chromatographic columns. J. Chromatogr. 1985, 350, 169—178.
118. Fleming, L. H.; Reynolds, J. N. C. Separation and detection of closely related endorphins by liquid chromatography-electrochemistry. J. Chromatogr. 1986, 375, 65—73.
119. Allison, L. A.; Shoup, R. E. Dual electrode liquid chromatography detector for thiols and disulfides. Anal. Chem. 1983, 55, 8—12.
120. Lunte, S. M.; Kissinger, P. T. The use of liquid chromatography with dual-electrode electrochemical detection in the investigation of glutathione oxidation during benzene metabolism. J. Chromatogr. 1984, 317, 579—588.
121. Lunte, S. M.; Kissinger, P. T. Detection of thiols and disulfides in liver samples using liquid chromatography/electrochemistry. J. Liq. Chromatogr. 1985, 8, 691—706.
122. Halbert, M. K.; Baldwin, R. P. Determination of cysteine and glutathione in plasma and blood by liquid chromatography with electrochemical detection using a chemically modified electrode containing cobalt phthalocyanine. J. Chromatogr. 1985, 345, 43—49.
123. Shankaran, D. R.; Narayanan, S. S. Amperometric sensor for thiols based on mechanically immobilised nickel hexacyanoferrate modified electrode. Bull. Electrochem. 2001, 17, 277—280.
124. Bratin, K.; Kissinger, P. T. Reductive mode thin-layer amperometric detector for liquid chromatography. J. Liq. Chromatogr. 1981, 4, 1777—1795.
125. Rappaport, S. M.; Jin, Z. L.; Xu, X. B. High-performance liquid chromatography with reductive electrochemical detection of mutagenic nitro-substituted polynuclear aromatic hydrocarbons in diesel exhausts. J. Chromatogr. 1982, 240, 145—154.

126. Hart, J. P.; Sheares, M. J.; McCarthy, P. T. Enhanced sensitivity for the determination of endogenous phylloquinone (vitamin K1) in plasma using high-performance liquid chromatography with dual-electrode electrochemical detection. Analyst 1985, 110, 1181—1184.
127. Lund, W.; Hannisdal, M.; Greibrokk, T. Evaluation of amperometric detectors for high-performance liquid chromatography: Analysis of benzodiazepines. J. Chromatogr. 1979, 173, 249—261.
128. Hanekamp, H. B.; Voogt, W. H.; Frei, R. W.; Bos, P. Continuous flow alternating current polarographic detection of nitrazepam in liquid chromatography. Anal. Chem. 1981, 53, 1362—1365.
129. Khalil, M.; Gonnet, C. Simultaneous determination of aspirin, its major metabolites, acetaminophen and phenacetin by liquid chromatography. Comparative study of electrochemical and UV detection. Anal. Chem. Symp. Ser. 1983, 14, 85—95.
130. Smotkin, E. S.; Martin, G. B.; Rechnitz, G. A. Electrochemical determination of tricyclic antidepressants. Anal. Lett. 1991, 24, 797—808.
131. Ivandini, T. A.; Sarada, B. V.; Terashima, C.; Rao, T. N.; Tryk, D. A.; Fujishima, A. Electrochemical detection of tricyclic antidepressants by HPLC using highly borondoped diamond electrode. Chem. Sens. 2001, 17, 163—165.
132. Wilson, J. M.; Slattery, J. T.; Forte, A. J.; Nelson, S. D. Analysis of acetaminophen metabolites in urine by highperformance liquid chromatography with UV and amperometric detection. J. Chromatogr. 1982, 227, 453—462.
133. Walsh, F. X.; Langlais, P. J.; Bird, E. D. Liquid-chromatographic identification of acetaminophen in cerebrospinal fluid with use of electrochemical detection. Clin. Chem. 1982, 28, 382—383.
134. Miner, D. J.; Kissinger, P. T. Trace determination of acetaminophen in serum. J. Pharm. Sci. 1979, 68, 96—97.
135. Munson, J. W.; Weierstall, R.; Kostenbauder, H. B. Determination of acetaminophen in plasma by highperformance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1978, 145, 328—331.
136. Riggin, R. M.; Schmidt, A. L.; Kissinger, P. T. Determination of acetaminophen in pharmaceutical preparations and body fluids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 680—683.
137. Meinsma, D. A.; Radzik, D. M.; Kissinger, P. T. Determination of common analgesics in serum and urine by liquid chromatography/electrochemistry. J. Liq. Chromatogr. 1983, 6, 2311—2335.
138. Wong, J. K.; Joyce, T. H., III; Morrow, D. H. Determination of hydralazine in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1987, 385, 261—266.
139. Shah, J.; Mason, W. D. A dose-ranging study of the pharmacokinetics of codeine phosphate following intravenous administration to rats. J. Pharm Sci. 1991, 80, 229—231.
140. Leelavathi, D. E.; Soffer, E. F.; Dressler, D. E.; Knowles, J. Liquid chromatographic assay using electrochemical detection for the quantitation of indoramin in human plasma. J. Pharm. Sci. 1986, 75, 421—423.
141. Rotshteyn, Y.; Weingarten, B. A highly sensitive assay for the simultaneous determination of morphine, morphine-3-glucuronide, and morphine-6-glucuronide in human plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical and fluorescence detection. Ther. Drug Monit. 1996, 18, 179—188.
142. Takamura, K.; Kusu, F.; Abdel-Wadood, H.; El-Rabbat, N.; Saleh, G.; Refaat, I. Redox properties of isradipine and its electrochemical detection in the HPLC determination of the compound in human serum. Biomed. Chromatogr. 2000, 14, 453—458.
143. Locniskar, A.; Greenblatt, D. J. Determination of ciramadol and dezocine, two new analgesics, by high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. J. Chromatogr. 1986, 374, 215—220.
144. Kazemifard, A. G.; Moore, D. E. Liquid chromatography with amperometric detection for the determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in plasma. J. Chromatogr. 1990, 533, 125—132.
145. Lo, M. W.; Juergens, G. P.; Whitney, C. C., Jr Determination of nalbuphine in human plasma by automated highperformance liquid chromatography with electrochemical detection. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 1984, 43, 159—168.
146. Hynning, P. A.; Anderson, P.; Bondesson, U.; Boreus, L. O. Determination of ketobemidone in plasma by highperformance liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. 1986, 375, 207—211.
147. Mokry, M. Use of high-performance liquid chromatography with electrochemical detection for the evaluation of hydrolysis of antibacterial sulfonamides. Ceska Slov. Farm. 1996, 45, 199—203.

Y

148. Ricciarello, R.; Pichini, S.; Pacifici, R.; Altieri, I.; Pellegrini, M.; Fattorossi, A.; Zuccaro, P. Simultaneous determination of epirubicin, doxorubicin and their principal metabolites in human plasma by high-performance li-quid chromatography and electrochemical detection. J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1998, 707, 219—225.

149. Stinson, S. F.; Hill, K.; Siford, T. J.; Phillips, L. R.; Daw, T. W. Determination of flavopiridol (L86 8275; NSC 649890) in human plasma by reversed-phase liquid chromatography with electrochemical detection. Cancer Chemother. Pharmacol. 1998, 42, 261—265.

150. La Course, W. R.; Dasenbrock, C. O. Pulsed electrochemical detection of sulfur-containing antibiotics following high performance liquid chromatography. J. Pharm. Biomed. Anal. 1999, 19, 239—252.

151. Treskes, M.; De Jong, J.; Leeuwenkamp, O. R.; Van der Vijgh, W. J. F. Sensitive determination of cisplatin in body fluids with HPLC and on-line reductive electrochemical detection. J. Liq. Chromatogr. 1990, 13, 1321—1338.

152. Guitton, J.; Laffont, A.; Bruzeau, J.; Rochet-Mingret, L.; Bonnefoy, M.; Bureau, J. Determination of ceftazidime in plasma using high-performance liquid chromatography and electrochemical detection application for individualizing dosage regimens in elderly patients. J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1998, 719, 151—157.

153. McKay, G.; Geddes, J.; Cowper, M. J.; Gurnsey, T. S. Recent advances in the analysis of phenothiazine drugs and their metabolites using high performance liquid chromatography. Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry 1983, 7, 703—707.

154. Pappa-Louisi, A.; Papageorgiou, A.; Zitrou, A.; Sotiropoulos, S.; Georgarakis, E.; Zougrou, F. Study on the electrochemical detection of the macrolide antibiotics clarithromycin and roxithromycin in reversed-phase highperformance liquid chromatography. J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 2001, 755, 57—64.

155. Aravagiri, M.; Marder, S. R.; Wirshing, D.; Wirshing, W. C. Plasma concentrations of risperidone and its 9-hydroxy metabolite and their relationship to dose in schizophrenic patients: simultaneous determination by a high performance liquid chromatography with electrochemical detection. Pharmacopsychiatry 1998, 31, 102—109.

156. Hansen, E. B., Jr; Dooley, K. L.; Thompson, H. C., Jr Highperformance liquid chromatographic analysis of the antituberculosis drugs aconiazide and isoniazid. J. Chromatogr. B: Biomed. Appl. 1995, 670, 259—266.

157. Adams, E.; Roelants, W.; De Paepe, R.; Roets, E.; Hoogmartens, J. Analysis of gentamicin by liquid chromatography with pulsed electrochemical detection. J. Pharm. Biomed. Anal. 1998, 18, 689—698.

158. Furlanut, M.; Perosa, A.; Benetello, P.; Colombo, G. Electrochemical detection of benperidol in serum for drug monitoring in humans. Ther. DrugMonit. 1987, 9, 343—346.

159. Kauffmann, J. M.; Lopez Ruiz, B.; Gotor, M. F.; Patriarche, G. J. Electrochemical behaviour of tizanidine at solid electrodes. J. Pharm. Biomed. Anal. 1992, 10, 763—767.

160. Korpi, E. R.; Kleinman, J. E.; Costakos, D. T.; Linnoila, M.; Wyatt, R. J. Reduced haloperidol in the post-mortembrains of haloperidol-treated patients. Psych. Res. 1984, 11, 259—269.

161. Tjaden, U. R.; Lankelma, J.; Poppe, H.; Muusze, R. G. Anodic coulometric detection with a glassy carbon electrode in combination with reversed-phase high-performance liquid chromatography. Determination of blood levels of perphenazine and fluphenazine. J. Chromatogr. 1976, 125, 275—286.

（陈 阳 译）

药物及其制剂的吸水性①

Mark J. Kontny
Pharmacia, Kalamazoo, Michigan, U. S. A.
James J. Conners
Dura Pharmaceuticals, San Diego, California, U. S. A.

引言

药物及其制剂的物理、化学和机械性质在很大程度上取决于存在的水分。药物科学家能够举出大量固体或由固体混合物组成的处方因所含水分不同而具有希望有的和不希望有的性质。流动、压缩、结块、崩解、溶出、硬度和化学稳定性等仅是受水分影响的性质中的一部分。通常水以大量液体或在一定相对湿度下以水蒸气的形式存在，实际上在固体药物（活性成分和敷料）的生产、储藏、加工成型和成品包装过程中均存在水，所以有必要了解水在影响固体性质（反之亦然）中所起的作用。

尽管各种固体的性质和固体制剂的性能取决于湿度，但是深层的水与固体间的相互作用还不很清楚。例如，许多固体被描述为具“引湿性”，但没有进一步提及相对湿度和温度与吸湿程度和速率是否有联系，以及有怎样的联系[1]。为将其说明，假定水溶性的、非水合晶体物质如氧化钠，在它的临界相对湿度以下吸收非常少的水分（如低于0.1%），固体则完全溶解在所吸收的水分中。另一方面，固体制剂中一些典型的辅料如淀粉、纤维素和明胶胶囊，也吸收大量的水分（25%～50%），尽管它们没有溶解，但在相对湿度高的情况下发生了明显的形态转变（如膨胀）。一种材料的吸水速率取决于环境的相对湿度和与时间相关的固体含水量。在环境的相对湿度明显不同于辅料（如明胶）之前所处的情况时，最初的吸水/脱水速率变化会非常显著。但随着时间的推移，最终将接近零。另一方面，水溶性的、非水合晶体物质如氯化钠具有非常低的吸水/脱水速率，如果环境相对湿度一直低于其临界相对湿度，这种速率会减小至零。然而，如果相对湿度在临界值以上，吸水速率会相当大且会持续一段时间，直至所有固体溶解。很明显，不同样品的吸水和脱水机制明显不同。由此可见，用具有“引湿性”描述氯化钠或（和）淀粉，仅是对水与固体相互作用的初步理解，而这种相互作用可能影响其物理化学性质，因此有必要了解特定固体吸湿机制的本质。在此，我们提出下面这些问题作为研究水与固体间相互作用机制的基础。

（1）有多少水存在以及相应的水在活度是多少（近似于相对压力或百分相对湿度）？

（2）吸水或脱水的动力学如何？速率是恒定的还是一直变化？

（3）水的位置（例如，吸附在晶体的外表面，以特异性或非特异性结晶水的形式存在于晶体中，吸附在无定形区域，凝结在小孔中等）？

（4）固体中的水分以何种状态存在（例如，单纯水、结晶水、物理吸附水等）？

（5）固体以何种形式存在（例如，颗粒大小和形态、多晶态、结晶度、水合态）？这种形式在固体预期所处的温度和相对湿度范围内热力学是否稳定？

本章的目的就是说明水与固体物质相互作用的各种机制，介绍获取必要数据的方法，讨论水合和非水合晶型固体在临界相对湿度以下和以上时，无定形固体和制剂加工过的物质的吸水情况，最后讨论水分从一种物质向另一种物质的转移。

吸湿等温曲线

阐述所吸收的水蒸气与固体间相互关系的最基本方法就是利用水的吸附-解吸等温线。水的吸附-解吸等温线描述了固体吸附的水蒸气平衡量（通常用固体单位质量或单位表面积的量表示）与热力学量、水的活度（a_w）在恒定温度和压力下的关系。平衡时，固体吸附水的化学势必须等于水在蒸气相中的化学势。在蒸气相中水的活度与化学势的关系为

$$\mu = \mu^0 + RT\ln a_w \qquad (1)$$

式中：μ 为系统平衡时水的化学势；μ^0 为在一定湿度和压力下，水的标准化学势；R 为摩尔气体常量；T 为热力学温度。Lewis 定义任何纯物质或组分（如水）的相对湿度为逸度[2]，则水的活度可表示为

$$a_w = \frac{f_w}{f_w^0} \qquad (2)$$

式中：f_w 为平衡状态时，体系中水的逸度；f_w^0 是在标准温度和压力下，纯水的逸度。为方便处理，把系统中水的逸度（或“逃逸倾向”）近似看成与系统中的水蒸气压相等。只要水蒸气的性质类似于理想气体，这种假设就是成

① 本章摘自 *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids* 一书中的“固体的吸附水”的一部分，该书由 H. Brittain 编著，Marcel Dekker 公司 1995 年出版。

Y

立的。对于温度低于50℃、水蒸气压范围合适的制剂体系，这种近似是很合理的（相对误差小于0.2%）[3]。因此，水的相对蒸气压 P/P^0 常被用来估计体系中水的相对活度：

$$\alpha_w = \frac{P}{P^0} \tag{3}$$

式中：P 为体系中水的蒸气压；P^0 为指定温度下纯水的蒸气压。相对湿度（RH）定义为相对压力的百分值：

$$RH = 100\frac{P}{P^0} \tag{4}$$

等温线中的吸附线可以根据在已知相对压力时实验测量的固体吸水的平衡量来绘制，采用这种方法应选用已知质量绝对干燥的固体，然后逐渐增加体系中的相对压力。通常通过加热干燥固体样品，或者用真空去除吸附的水蒸气，以去除残留的水分。但必须要清楚这样操作对固体物理和化学稳定性的影响。等温线中的解吸线可以通过从一个单位的相对压力开始逐渐减小体系的相对压力，然后观察每一次减小相对压力时吸附水的平衡量。要记住，水的吸附等温线上的数值是水与固体相互作用达到平衡时测量的。理论上讲，从此实验中不能明确得到关于吸水动力学方面的信息，这一点很重要，将会在后面做更深入的探讨。

获得一种特定固体的吸水-失水等温线，有助于了解水与固体互相作用的本质，以及固体的表面特性。这些信息可以通过了解在较低相对湿度时，吸水量与样品的比表面积，等温线的一般形状，吸水是否是完全可逆过程（例如，吸附和解吸之间是否有滞后现象），如果存在滞后环则其形状如何等而得到。有了上述的知识，人们常常能获得关于特定材料吸水机制的一些启示。例如，一种材料在较低相对湿度下，吸水量要远多于根据样品比表面积预期的量，在相对湿度范围内出现滞后现象，那么，吸附水很可能进入此材料的内部。另外，某种材料在较高相对湿度下出现一种密闭的滞后环，与此同时，在较低相对湿度下其吸水量与根据比表面积预计的吸水量相似，那么可以推测材料本身多孔，在较高相对湿度下材料吸附的水是经过毛细管凝结而成的。

描述水蒸气吸附的模型

1. 勃劳纳尔、爱密特和泰勒（BET）方程

文献中最常引用的固体表面气体吸附的模型是1938年由勃劳纳尔、爱密特和泰勒提出来的[4]，即所谓的BET模型，最初推导采用的动力学论点，与Langmuir使用的很相似[5]。BET模型也可用统计力学推导[6~8]。BET模型假设蒸气分子的性质近似于理想气体，与由均匀吸附位点组成的固体相平衡。模型认为，固体表面吸附位点吸附的第一个气体分子是被束缚在上面的，而吸附在第一层以外的分子具有液体的性质。此外，假设发生吸附时被吸附的分子之间无相互作用。BET方程的线性形式是

$$\frac{1}{W\left[\frac{P^0}{P-1}\right]} = \frac{(C_b-1)\frac{P}{P^0}}{W_m C_b} + \frac{1}{W_m C_b} \tag{5}$$

式中：W 是在一定相对压力 P/P^0 下，每克固体吸附气体的质量；W_m 是每一个吸附位点仅有一个气体分子吸附时被吸附气体的理论量，而

$$C_b = k\exp\left(\frac{H_1 - H_L}{RT}\right) \tag{6}$$

式中：H_1 是位点被第一个气体分子吸附时的吸附热；H_L 是溶剂的凝固热；R 为气体的常数；T 是绝对温度；k 是常数，通常假设接近1。两个BET常数 W_m 和 C_b 很容易从式（5）作直线图求得：以 $1/[W(P^0/(P-1)]$ 对 P/P^0 作图，斜率为 $(C_b-1)/W_bC_b$，截距为 $1/W_bC_b$，经数学变换得到：

$$W_m = \frac{1}{\text{斜率}+\text{截距}} \tag{7}$$

$$C_b = 1 + \frac{\text{斜率}}{\text{截距}} \tag{8}$$

一般而言，相对压力为0.05～0.35时，BET方程与吸附数据很吻合，但是在较高的相对压力下，由BET方程计算而得的吸附量远远高于实测量，这与BET公式在推导时假设在相对压力为1时固体表面可以吸附无限量分子层是一致的。经常将BET公式用于考查非极性气体的吸附，以计算固体样品的比表面积。知道吸附分子的截面积，可以用 W_m 通过下面的关系计算比表面积：

$$S = \frac{W_m X N_{av}}{M\Sigma} \tag{9}$$

式中：S 是比表面积，单位 m^2/g；W_m 是气体分子单层覆盖时；吸附质的质量，X 是吸附质分子的截面积（假定氮为19.5Å²，氮气为16.2 Å²，水蒸气为12.5 Å²）；N_{av} 是阿伏伽德罗常量；M 是吸附质的相对分子质量；Σ 是样品的质量。很明显，在非单分子层吸附的情况下用 W_m 计算表面积［或是不完全覆盖（参阅下面的“非水化合物的吸水性”一节）或是固体内部吸附（参阅“吸水性研究中比表面积计算的意义”一节）］将得到一些没有物理意义的错误值。所以，比较从非极性气体吸附测得的表面积与从吸附等温线中测得的表面积可以了解水与固体的相互作用，这将在后面深入讨论。

2. Guggenheim 与 deBoer 方程

自从BET方程推导出来后，人们对BET吸附理论的改进做了许多尝试。但由于BET模型简单，在较低的相对压力下能完美吻合吸附数据，故仍是用非极性气体吸附计算表面积的优选模型。在用许多BET模型的改进公式分析数据时，常常需要增加至少一个拟合参数，因为只有两个可测定的参数 W 和 P/P^0，所以需要计算机拟合。从模型角度看，因为附加了未知或物理意义不确定的拟合参数，导致所得结果很难解释，阻碍了多参数模型的应用。因此，这里只讨论在相对压力较宽范围内可拟合气体吸附数据的BET改进模型，该模型是Guggenheim[11]和Deboerp[12]提

出的，他们认为，在紧密吸附于某一吸附位点上的第一个气体分子与很高相对压力时吸附的浓密气体之间存在一个气体中间态。在中间范围吸附的分子能与固体发生相互作用，但这种相互作用力比吸附位点吸附第一个气体分子时的作用力小得多。显而易见，增加这种“第三态”的相互作用是一种近似处理，使所有可能的情况下，相互作用成为连续的统一体。然而，从计算的角度来看，三种或更多种状态的存在是模糊不清的，这种三态相互作用模型的公式是

$$W = \frac{W_m C_G K \frac{P}{P^0}}{[1-K\frac{P}{P^0}][1-K\frac{P}{P^0}+C_G K\frac{P}{P^0}]} \quad (10)$$

式中：P、P^0、H_L 和 W_m 与 BET 方程中参数的意义相同，且

$$K = B\exp(\frac{H_L - H_m}{RT}) \quad (11)$$

式中：B 是一个常数；H_m 是气体在中间层吸附时的吸附热。常数 C_G 定义为

$$C_G = D\exp(H_1 - H_m RT) \quad (12)$$

式中：D 是常数；H_1 是某一位点吸附第一分子时的吸附热；H_m 是中间束缚分子的吸附热。

3. 无定形固体的水蒸气吸附

可以把水蒸气与无定固体相互作用的过程比作是固体溶液的生成过程（水溶解于固体基质中），在此过程中，随着吸附水增多的，这种固体基质的基本性质（如黏性）会发生明显的改变，进而导致表观物理性质发生明显的改变（如瓦解、重结晶等）[13~17]，这将在后面深入讨论。

尽管水蒸气并不是简单的吸附在无定形固体的表面，但是我们发现，其吸附等温线在 $P/P^0 < 0.40$ 时仍可用 BET 方程拟合，在整个 P/P^0 范围内均可使用其扩展公式 10。因为这是爱德森在研究吸水率的时候最先提出的，所以常称之为 GAB 公式[19]。因为在原始公式理论推导的过程中，没有直接把吸收的过程移植过来，该过程包括水在无定形固体中的溶解，因此，拟合成 GAB 公式受到了一些限制。但是，这仍不失为一个非常有用的公式，因为它能描述整个等温线并且可以引出一些有用的参数（下面继续讨论）。

吸附过程中，水蒸气溶解于固体，所以以溶解理论为基础的许多模型都认为吸附质像固体溶液一样吸附于固体中。这些模型已经用于描述聚合物的吸水作用，如 Flory-Huggins[20] 和 Hallwood-Horrobin[21] 等。近来，Vrentas 等又建立了一种以溶液理论为基础的模型，该模型解释了水对聚合物的增塑作用，常用来描述聚合物的整个水分吸收等温线[22~24]。这些吸附理论和改进的 BET 吸附模型都是以有意义的物理化学原理为基础的，所以，还需要进一步阐明聚合物体系中水分吸附的分子机制。因此，本章不会深入讨论以不同理论观点为基础的其他模型，如想进一步了解，读者可直接参阅有关其他吸附理论的文章[25,26]。

4. 毛细凝结

当蒸气压 P_r 低于蒸气压 P^0 时，平面材料表面的蒸气（如水）在孔隙中凝结成液体，与此不同，多孔性固体表面的蒸气会在固体表面凝结成液体，因为当表面高度弯曲时，吸附质分子间的引力增加，如小孔和毛细管。这种现象被称为毛细管凝结，用开尔文方程描述[27]：

$$\ln(\frac{P_r}{P^0}) = -2\gamma V_m rRT \quad (13)$$

式中：γ 是吸附膜（假设其相当于液体）的表面张力；V_m 是液体的摩尔体积；r 是孔径；R 是气体常数；T 是温度。在研究云母吸水时，开尔文方程在孔径小于 5nm 时仍适用[28,29]。正如在水的吸附等温线一节中提及的，在多孔性材料的吸附－解吸等温线中，毛细管凝结将会导致一个闭合的滞后环。假设 298K 时水的表面张力为 72.8erg/cm^2、密度为 0.998g/cm^3，（这种假设的目的是便于计算，实际上，水在小孔中的密度小于液体中[30]），计算 P_r/P^0，结果表明，在孔径分别为 1000nm、100nm、10nm 和 1nm 时，相对压力分别为 0.998、0.989、0.898 和 0.340 时，均发生了凝结。因此，只有孔径非常小时才考虑毛细管凝结。在实际生产中，应该考虑比表面积相当大的（>100m^2/g）微孔性药物粉末的吸水机制，可用非极性气体吸附研究加以确定。

方法学

1. 相对湿度的控制

维持恒定的相对湿度对研究水与固体之间的相互作用很重要。下面四种主要的技术常常用来维持恒定的相对湿度：

- 依数（性）溶液；
- 改变水溶液的温度；
- 控制固体表面的总压力；
- 混合干湿空气流

对于饱和的盐溶液和硫酸溶液，可以通过降低其溶液的蒸气压来建立相对湿度（一种依数效应）。只要有过量的盐和溶液存在，一定温度的饱和盐溶液可以维持一定的相对湿度。随着溶液吸水或失水，溶液上空的水分将会凝结或蒸发，为了维持蒸气压的平衡，溶液中的盐会溶解或析出。由于蒸气压的抑制程度取决于溶液中物质的量，再者，大多数盐的溶解度取决于温度，所以相对湿度与温度有关。同一种盐在不同温度下形成的溶液具有不同的相对湿度。在不同的温度下，特定的饱和盐溶液具有确定的相对湿度，这些值可以从相关文献中查阅[31~35]。相对湿度取决于溶解物质的数量，所以在试验开始前令溶液达到饱和很重要，建议在开始研究吸水作用之前就配制好盐溶液。常用不同浓度的硫酸溶液研究相对湿度[35]。然而，当固体吸水或脱水时，硫酸溶液中的水会增加或减少，从而改变溶液中硫

酸的浓度，进而改变溶液上空的相对湿度。特别是当有少量的水从固体中吸附或解吸时，这种控制溶液上空相对湿度的方法更实用。

也可以用改变水溶液温度的方法来维持溶液表面相对湿度的稳定[19]。该技术可以把某一温度的固体和水溶液与另一温度的体系联系起来。由于蒸气压取决于温度，所以可以通过严格控制水溶液和固体的温度来维持这种固体周围相对湿度的恒定。

通过控制固体上空的蒸气压也可维持固体的相对湿度。正如式 4 所示，相对湿度与蒸气相中水的分压有直接关系。用这种方法控制相对湿度时，在分析前，样品上空必须抽成真空，纯水蒸气才能小心进入蒸气相。因为只有水蒸气存在时，系统中测量的压力才直接与样品的相对湿度有关[36]。

以一定比例混合干燥的空气和水蒸气饱和的湿空气也可以维持恒定的相对湿度。控制流量及干燥和饱和空气的水蒸气含量对确保得到准确、可重复的相对湿度很重要[37,38]。

2. 相对湿度的测量

测量相对湿度依赖于一定的系统。采用真空系统时通常在引入水蒸气之前抽真空[36,39]。对于不会发生产气反应的情况，可测量系统的总压作为水蒸气压。对于没抽真空的系统，要采用一些特殊的方法来测量水蒸气压。对于后一种系统，因为需要水蒸气通过空气扩散到固体才能在固体附近维持恒定的相对湿度，所以要确保相对湿度源与固体很接近。有很多种测量压强的仪器可供使用，它们在准确度、精密度及价格方面都有所不同。

3. 临界相对湿度（RH_0）的测量方法

临界相对湿度（RH_0），即固体开始潮解时的相对湿度，测定方法有三种：①直接法，测量物质饱和溶液上面的相对湿度；②测量发生显著吸潮并溶解时的相对湿度；③间接法，测定相对湿度高于 RH_0 时的稳态吸潮速率，再用外推法算出吸潮速率为 0 时的相对湿度[1,40,41]。

虽然其他技术也可测量饱和溶液上面的相对湿度，但一种相对简便的方法是：先顶空排气（利用气相膨胀来排气），再用真空泵抽气，并将饱和溶液维持在一个恒定的温度下，再测量水蒸气压。这时的水蒸气压除以 P^0 就是相对湿度，P^0 即纯水在指定温度下的蒸气压[42]。

4. 吸水测定（潮解动力学）

测定 RH_0 以上的吸湿速率需要维持和测量一系列的相对湿度，并能够测量固体随时间变化的水分含量。利用真空系统可使水蒸气在通过顶空扩散降到最低，并使样品附近的相对湿度维持恒定。最可靠的评价稳态吸湿速率的方法是：固体完整性未被破坏，且吸湿薄膜层比较薄时（近似饱和状态），尽早测量吸潮速率。该法也有助于观察试验过程中的固体，以确证其完整性得到维持和存在过量的固体[41,43]。

5. 吸湿平衡的测定

在相对湿度可控的环境下，可用质量分析或容量分析绘制水的吸附一解吸等温线。

质量分析法

- 样品的干重
- 样品的温度要恒定
- 维持顶空的相对湿度在预定的恒定值
- 达到水蒸气的吸附平衡并测量所吸附水蒸气的质量

吸潮的质量分析法可分为连续法和间断法。连续法通常要求在温度和相对湿度可控的环境中将样品置于天平上，如密闭体系中的微天平[37~39,44]。目前所用的商业化的系统能够精准的控制相对湿度并同步监测样品的质量。

容量分析

- 样品干重
- 样品的温度要恒定
- 先测定定容积的水蒸气压，再测定平衡样品的顶空水蒸气压
- 测量单个腔室的死体积，包括样品室

实质上，容量法是在给定的水蒸气压下平衡已知的顶空容积，然后将预平衡的样品暴露于水，达到平衡后再测量水蒸气压。吸收水的量为 Δn（以摩尔计），设体系的终压为 P_f，平衡时计算出的水蒸气压 P_f^{calc} 与最终测得的水蒸气压 P_f^{calc} 之差为 ΔP，由此得到：

$$\Delta n = \frac{\Delta PV}{RT} \tag{14}$$

式中：V 为终体积；R 为摩尔气体常量；T 为热力学温度[39]。

晶体的吸湿性

1. 一般模型

图 1 显示了结晶性水溶性固体吸收水蒸气的重要步骤。在相对湿度较低时，非水合的固体表面可吸收水分，随着相对湿度的增加，有可能形成多层吸收。在某些相对湿度（为给定物质的特征）下，固体将会溶解在表面的水层中，最有可能形成饱和溶液，这将使得水层（吸收水分形成的表面水层）的蒸气压相对于纯水的蒸气压有所降低，降低至与物质饱和溶液的蒸气压一致时维持恒定。蒸气压可以表述为临界相对湿度（RH_0）。如果空气的相对湿度比饱和溶液的相对湿度（RH_0）要大，空气中的水将会自发凝结在水膜中，这将会稀释水膜，从而使更多的固体溶解。反过来，这样又可维持压力梯度，吸收水蒸气的过程还将一直持续，直到所有的固体都溶解，溶液的浓度会进一步减小。只有当溶液的相对湿度提高到和空气的相对湿度一致时，这一过程才会终止。这种现象叫做潮解。固体经历的由无水状态向水合物的转变，与由一种水合物形态转化为

另一形态的过程一样，在高于 RH_0 时就会发生。在制药体系中，剂型中经常包含水溶性的物料，因此，认识潮解的条件和在低于潮解点的相对湿度时分子的运动情况很重要。

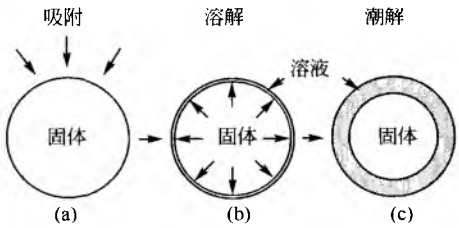


图 1 水溶性固体在空气相对湿度<RH_0 (a)；=RH_0 (b)；>RH_0 (c) 时的水蒸气吸附和潮解

2. 在 RH_0 以下时非水化合物的吸水性

不含结晶水的固体在相对湿度低于 RH_0 时对水蒸气的吸收取决于固体表面的极性，且和表面积呈正比。例如，水吸附在极性固体如碳、聚四氟乙烯（Teflon）表面的趋势非常小[29]，而更容易吸附在极性强的物质上，如卤化碱[45~48]、有机盐如水杨酸钠[48]。由于这些物质只是外表面吸收水分，所以与水合物和无定形物内部结构吸收的水分相比，其水分含量很小（小于 1mg/g）。

然而，有关结晶性无水物在低于 RH_0 时的吸水行为的报道很少，主要是因为所吸收水分的量非常小，很难精密测量。然而，卤化碱是个例外，因为它的粒子形态特征很清楚[45~48]。图 2 是重结晶的氯化钠水分吸收等温线[48]。吸收水分的量是相对湿度的一个函数，用样品的比面积进行归一化。由于氯化钠只有外表面吸收水分，因此需要对不同批的物质的吸水量进行比较，然而以每克物质的吸水量为数据绘图没有多大意义或是无意义的。从图 2 可知，氯化钠样品的比表面积为 $0.0875m^2/g$（通过对氪的吸附研究得到），甚至在相对湿度高于 70%时，每平方比表面积的氯化钠也只吸收 5×10^{-4} g 水。同样，也要注意吸附等温线的表观阶梯形特征。在较低的相对湿度下，通过 BET 法分析吸附数据可得到 W_m 为 $7.6\times10^{-5}g/m^2$。假定每个水分子的面积为 $12.5Å^2$，只占单层覆盖预期值的 0.32。也就是说参考吸附水的层数作为 W_m 的倍数没有意义。有趣的是，图 2 第二步的吸附平台在湿度达 W_m 的三倍时出现，也就是说氯化钠的单层吸附在等温吸收的第二步就完成了。Barraclough 和 Hall[45]认为，当吸收水分热高至 W_m 时，它就为一恒量，而当吸收热减小时，在 W_m 的两倍左右时保持不变。考虑到测量 W_m 和等位吸收热时产生的试验误差，水以均匀的结合能（W_m）被吸收，并能在单层吸附完成之前产生较小程度的相互作用。

如图 2 所示，Barraclough 和 Hall 的工作[45]也表明，只要没有达到 RH_0，氯化钠的水分吸收量与相对湿度的函数关系是可逆的。这也就证明了水溶性结晶体在 RH_0 以下的相对湿度下不会溶解，符合热力动力学原理，即在相对湿度低于 RH_0 时，溶解需要过饱和溶液，也就是增加溶液

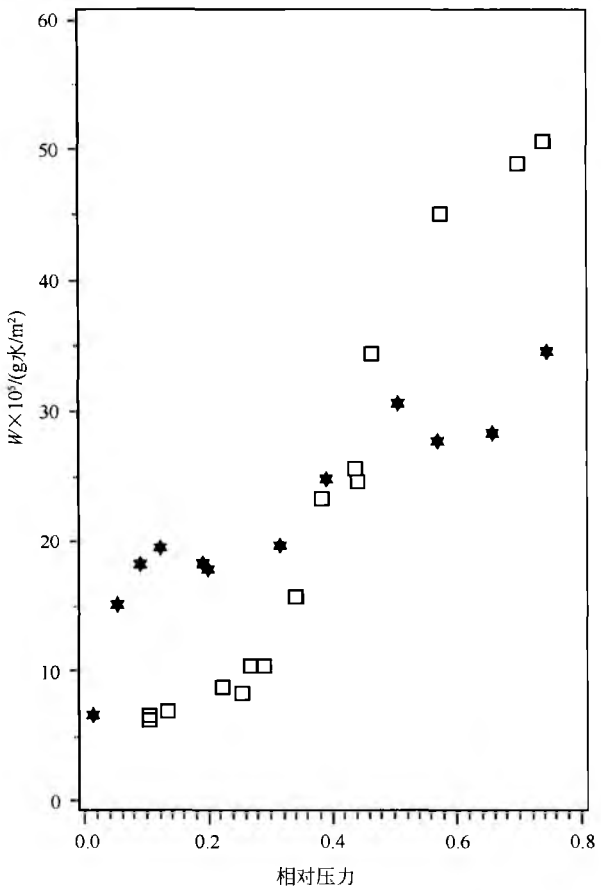


图 2 重结晶氯化钠（□）和地面氯化钠（★）在 20℃时的水蒸气吸附[48]

中的物质的种数可增加相对湿度低于 RH_0 时物质的溶解度。因此，只要考虑在 RH_0 以下的纯结晶物质的固态性质即可，这一点将在后面详细介绍。此外，也要考虑在物质存在多晶型或含有无定形材料时的情况。

3. 在低于 RH_0 时的水合物的吸水

许多药物和辅料将水作为完整晶体结构的一部分，如头孢氨苄一水合物、硫酸奎尼丁二水合物、氨苄青霉素三水合物、硫酸可待因三水合物、硫酸吗啡二水合物、棉子糖五水合物、乳糖一水合物等。先将这些物质干燥成无水状态，在特征相对湿度以下，这些物质的行为与无水物相似，固体外表面的吸水量相对较少。一旦达到特征相对湿度，增加体系中的水也不会使相对湿度进一步上升。相反，这些水分会被吸收使无水物转变成水合物。水和固体之间作用力的强弱取决于晶格上氢键的量[29,49]。有些水合物，如咖啡因和茶碱，氢键相对较弱，水分子主要起填充的作用，有助于稳定水合物[29,49,50]。

水合物中水分子和固体呈一定的化学计量关系，如一水合物为 1∶1，二水合物为 2∶1，无水合物为 5∶1，并有规律地排列在晶格内，所以固体可以吸收相对比较多的水

Y

分。图 3 为异丙托溴铵的等温吸湿线[51]。这种物质在相对湿度为 63%～75%时结晶水合，在高于 75%的相对湿度时，大约吸收 4.6%的水分（一水合物理论上为 4.4%）。有趣的是，因为无水异丙托溴铵达平衡要很长时间（如图 3 所示，分别要 2 个月和 5 个月），晶体通常在相对湿度为 53%～63%时发生水合作用。这个例子清楚地表明，在选择的相对湿度下，要准确评价吸附平衡所需要的时间。与许多水合物相同，异丙托溴铵的等温吸附和解吸都有很严重的滞后，这是由水结合的程度和水合晶格内水的物理调整所致。

也要考虑非特异性水合作用或没有发生一级相变的晶格的水合作用。Cox 等报道过色甘酸钠的吸湿情况，及其物理性质的相应变化[52]。虽然在相对湿度为 90%时，一个色甘酸钠分子晶格可吸收九个水分子，但这一吸收曲线并没有显示与固定水合物相应的尖峰。相反，吸收曲线表明，随着相对湿度的增加，水分含量逐渐增加，导致 X 射线衍射图、密度和其他物理性质都发生了明显的改变。本例中，色甘酸钠的吸湿与其晶格在 b 结晶方向上的膨胀相关，表明脱水作用是可逆的。

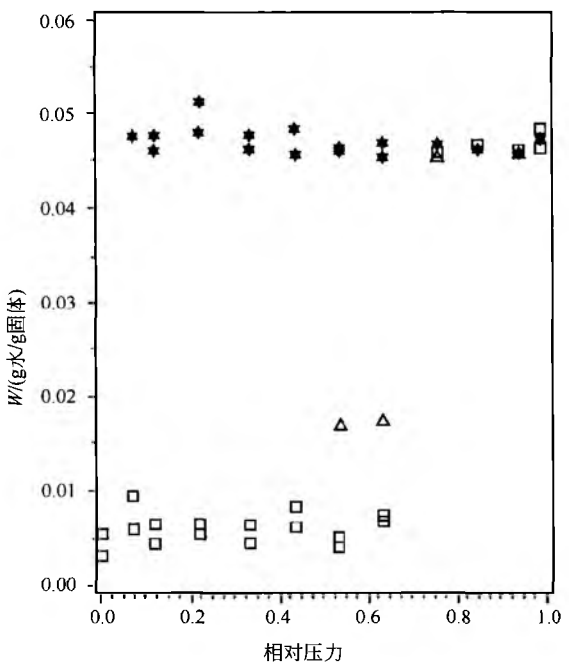


图 3 异丙托溴铵 20℃时水蒸气的吸附和解吸等温线。□2 个月的吸附结果；△5 个月的吸附结果；★2 和 5 个月的解吸结果（注：除了 53%和 63%相对湿度，所有的 2 个月和 5 个月的解吸结果在 5 个月均进行了验证）

必须彻底地搞清固体形成结晶水合物的水合曲线。第一，由于无水物和水合物为热力学性质不同的物质，所以其理化性质也不同，如溶解性。这些理化性质可能影响其溶出度和生物利用度。第二，可通过控制确定的环境条件，简便地得到和使用需要的一种水合物。第三，当水化或脱水时，会吸附或解吸大量的水分，从而显著影响系统本身（包括邻近固体）的理化性质。

4. 临界相对湿度 RH_0

了解处方中每一个组分和系统整体的 RH_0，对预测由于水溶性成分的溶解导致系统的物理性质发生重大改变时的相对湿度是非常重要的。RH_0 为一种依数性质，溶液内的组分数对其值有很大的影响。根据常识可得出二条结论：第一，水不溶性化合物的 RH_0 远高于 95%的相对湿度；第二，随着溶解度的增加，RH_0 减小。当溶液浓度越来越高以致成为非理想状态时，通常不太可能用稀溶液的模型（Raoults 法则）来预测水溶性好的溶质的 RH_0。因此，要测量单个固体的 RH_0。表 1 列出了部分单组分系统的 RH_0。

另外，混合物的 RH_0 可由单组分的 RH_0 通过 Ross 方程计算得到[54]：

$$\frac{(RH_0)_{mix}}{100} = \left(\frac{(RH_0)_1}{100}\right) \times \left(\frac{(RH_0)_2}{100}\right) \times \left(\frac{(RH_0)_3}{100}\right) \cdots \quad (15)$$

式中：$(RH_0)_{mix}$ 是混合饱和溶液的相对湿度；$(RH_0)_i$ 是单个饱和盐溶液的相对湿度。Ross 方程假定混合液为稀溶液，并忽视溶液中各成分之间的相互作用。表 2 比较了由 Ross 方程算出的混合液的 RH_0 与试验测得的 RH_0，吻合较好，尤其考虑到溶质的高溶解度，估计溴化胆碱/四丁基溴化铵系统有 50g 分子溶解[43]。

表 1 单组分系统在 25℃时的 RH_0

化合物	RH_0	参考文献
氯化钾	84	[41]
溴化钾	81	[41]
碘化钾	68	[41]
氯化钠	75	[41]
碘化胆碱	72	[41]
溴化胆碱	41	[41]
氯化胆碱	23	[41]
四丁基溴化铵	61	[41]
醋酸钾	23	[31]
碳酸钾	43	[31]
蔗糖	84	[41]
果糖	64	[41]
葡萄糖	87	[41]
水杨酸钠	79	[39]
苯甲酸钠	88	[39]
水杨酸	>99	[53]
苯甲酸	>99	[53]
羟基丁二酸	78	[53]
酒石酸	93	[53]
富马酸	98	[53]
琥珀酸	95	[53]

表 2 混合组分系统 25℃时的 RH_0

混合物	计算值	实测值
氯化钠-溴化钾	61	64
氯化钾-氯化钠	64	67
蔗糖-溴化钾	68	73
蔗糖-右旋糖一水合物	69	68
蔗糖-氯化钠-溴化钾	51	57
溴化胆碱-溴化钾	33	40
四丁基溴化铵-溴化钾	49	57
四丁基溴化铵-溴化胆碱	25	34

5. 高于 RH_0 潮解动力学

由 Edgar 和 Swan[55]、Adams 和 Merz[56]、Prideaux[57]、Morkowitz 和 Boryta[58]，以及 Carstensen[1] 所做的初期工作表明，高于 RH_0 时水溶性固体的吸湿速率取决于环境中水蒸气分压与水溶性物质饱和溶液的水蒸气分压之差、温度、固体暴露的表面积、湿空气的运动速度，以及反映每一固体特性的特征反应常数。

Van Campen 等[41] 建立了高于 RH_0 时的吸湿速率模型，考虑了水向固体物质的质量转移和热量从固体表面的转移。由于不考虑蒸气的扩散，Van Campen 模型大大简化了一些特殊包含纯水的情况（如初态是真空）。这时，固体表面的热传出速率是限制吸附速率 W' 的唯一重要因素。对于这种特殊情况，推导出的吸湿速率表达式就只是环境的相对湿度 RH_1 和 RH_0 的函数。

这一模型最初应用于考察卤化碱、糖及胆碱盐等单组分系统在高于 RH_0 时的真空吸湿动力学[41]。后来，扩展到应用于研究多组分系统在高于 RH_0 时的吸湿动力学[43]。

无定形固体的吸湿

1. 室温等温线分析

在临界相对湿度以下，无定形固体的吸水量通常比非水合晶体的吸水量大得多。制剂中常用的这类典型材料包括纤维素、淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、明胶和一些冻干的蛋白质。尽管其中一些物质的某些性质与晶体类似，但一般都含有绝对数量的无定形体，所以将其归类为无定形物质。图 4 为微晶纤维素典型的等温线。由图可见，在整个相对湿度范围内，微晶纤维素吸收了大量的水，吸附、解吸等温线均呈在气体物理吸附中常观察到的 S 形。而且，等温线的吸附和解吸部分有较明显的滞后现象，即在一定的相对压力下，与固体相关的水量解吸比吸附大。这是此类材料典型的特征，可能是由动力学效应或是吸附水增塑作用引起的聚合物链构象改变造成的[19,59~62]。

图 4 也表明，GAB 方程与微晶纤维素吸附-解吸等温线非常吻合。这样看来，对于这类物质，该方程对于整个相对湿度范围内的等温线拟合都有实际意义，而 BET 方程只

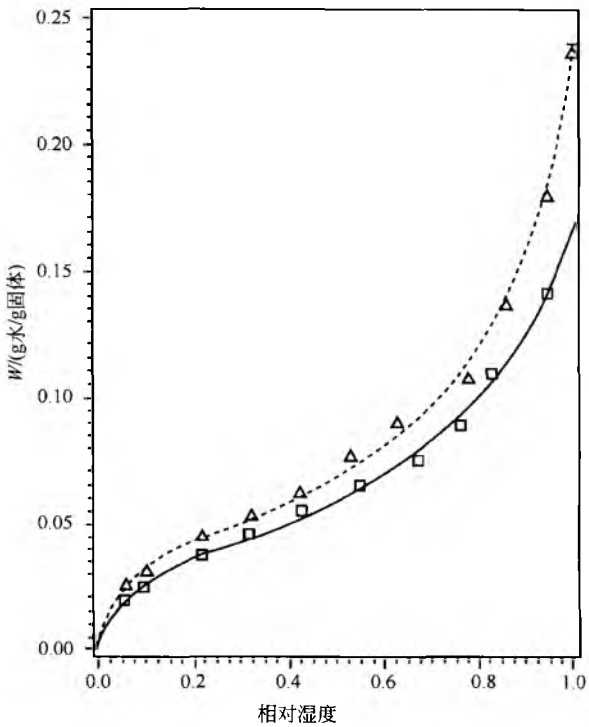


图 4 微晶纤维素 20℃时的水蒸气吸附（□）和解吸（△）等温线。实线：GAB 拟合的吸附线；虚线：GAB 拟合的解吸线

在相对湿度达到 40%时才能拟合吸附数据。然而，如前所述，这不能从本质上证实 GAB 模型描述这类物质吸水的可靠性。另外，物理意义的独立证明也很必要。

通过分析给出 W_m 的等温线，对淀粉和纤维素水结合的主要机制已有相当的了解［式（5）、式（7）和式 10］，表 3 给出了三种不同类型淀粉的 W_m[61]。由表可知，尽管各种淀粉在形态上存在很大差异，但 W_m 维持恒定。从拟合解吸数据中得到的 W_m 比从吸附数据中得到的稍高。这是可以预期的，如果预先暴露于较高的相对湿度，增加了初次吸附位点，水分的吸附量也会提高。如 Wan den Berg 等所说[19,59,60]，假设以一个水分子吸收一个单位的脱水葡萄糖计算，那么这些 W_m 都接近每克淀粉 0.11g 水。因为这种计算是假设所有的脱水葡萄糖单位都能进行初次吸附，所以测量的 W_m 略小于 0.11g/g 也就不奇怪了。

表 3 不同淀粉的水分吸收等温线进行 BRT 分析后得到的 W_m[61]

淀粉	W_m/（g/g）	参考文献
玉米	0.095[1)]	[39]
玉米	0.083	[63]
马铃薯	0.085	[19]
小麦	0.080	[19]

1）该值从解吸等温线得到，其他从吸附等温线得到。

Y

Zografi 等用不同的纤维素吸水做进一步分析。对于纤维素，因为只有无定形区域吸收水分，所以有必要使用校正因子。表 4 列举了从等温线分析中得到的几乎结晶度不同的纤维素的 W_m。正如所预计的，在没有进行结晶度校正时，不同结晶度的纤维素显示不同的 W_m，并且均低于淀粉的 W_m。进行结晶度校正后，所有的 W_m 一致，且与淀粉的 W_m 吻合。更有趣的是，由于碾磨，表 4 中微晶纤维素具有不同的结晶度[66]。这些结果说明，淀粉和纤维素非结晶区域的吸水机制相似。

表 4 不同纤维素的吸湿等温线经 BET 分析后得到的 W_m 进行结晶度校正的结果[61,66]

纤维素	结晶度/%	W_m 校正值/（g/g）	参考文献
棉花	70	0.093	[65]
赛璐珞	40	0.098	[65]
MCC	63	0.095	[66]
MCC[1)]	49	0.076	[66]
MCC[1)]	38	0.107	[66]
MCC[1)]	0	0.086	[66]

1）MCC 用球磨机进行碾磨。

作为药用辅料的其他纤维素和淀粉衍生物的类似吸湿分析结果见表 5。考虑到从发表的图中估计吸湿的不确定性，设相互之间的 W_m 一致，化学计量数为每个无水单位一个水分子。有趣的是，所测量的两种纤维素衍生样品，羧甲基纤维素钠和交联羧甲基纤维素钠，不需要任何结晶度校正就符合 1∶1 的化学计量关系。可见，化学结构的改变和材料的加工实质上消除了纤维素的结晶性。

表 5 不同的药用辅料的吸湿等温线经 BET 分析后得到的 W_m[61]

辅料	W_m/（g/g）	参考文献
淀粉 1500®	0.074	[63]
羧甲基淀粉钠（Explotab®）	0.081	[67]
羧甲基淀粉钠（Primogel®）	0.092	[67]
交联右旋糖（CLD-2）	0.098	[68]
交联羧甲基纤维素钠（Ac-Di-Sol®）	0.094	[68]
羧甲基纤维素钠	0.103	[69]

前面分析表明，水穿过这些物质的无定形区域，并与可用的吸收位点发生了相互作用，很可能是与脱水葡萄糖上羟基作用。不同的淀粉[19,63]和纤维素[10,68]的差示吸收热证明了这点。收集的数据表明，当含水量至少 3 倍于 W_m 时，水和固体间才发生特定的相互作用。与该范围的水相比，这种体系中的水以更稳定的形式存在，如移动性降低。有趣的是，吸收热与每个脱水葡萄糖单位吸附 1～2 个水分子的化学计量关系有点不符。一些差示吸收热在整个 W_m 范围内几乎恒定，表明在整个范围内水分子的结合是均匀的[10,19]。然而，并不总是如此。如 Etzler 和 Conners 报道的纤维素样品的汽化热[70]。DSC/TGA 的同步测量结果表明，一旦含水量低于约每克纤维素 0.5g 水（大约 3 倍于 W_m），基质中水的解吸热将持续升高。这表明吸附水存在能量不同的多态。

水与固体间这种特定的相互作用力可以从热力学研究中得到支持的证据，这些研究包括非游离水的量[71～73]、NMR[39,74～80]和散射[81,82]等。然而，这些证据尚不能很清楚地表明，是否不同能级的吸收位点水的结合也不同，或是否存在一个连续态，随着吸附水的增加相互作用的程度降低[61,83]。但能明确的是，在任何情况下吸附的水都有相当大的流动性，所以用“结合水”这个词不一定合适[61,84]。

2. 等温吸附与温度的关系

一般而言，无定形固体吸附水是相对湿度的函数，随着温度的升高会下降，说明这是个放热过程，与蒸气吸附过程一致。此过程可以在纤维素[85]、淀粉[19]、PVP[13]和聚甲基丙烯酸甲酯实验[86]中观察到。假设主要是因水的结合程度变化而引起放热。由于固体形态的变化和熵变，使得实际过程远比这复杂。关于温度对水蒸气吸附影响的复杂性及可能引起的水的增塑作用，可以参阅 Oksanen 和 Zografi 所做的研究[13]。他们报道，在－40～60℃范围内，PVP 的 W_m 降低了 3 倍，表明 W_m 并不能反映聚合物中可以直接结合水的结合位点的绝对数量。相反，W_m 似乎与 W（$T_g=T$）相关，吸收的水量将会降低玻璃化转变温度 T_g 至样品的温度。而在整个温度范围内，W（$T_g=T$）/ W_m 保持大约 0.3 不变。

总之，无定形聚合物能吸收相当量的水，吸收部位与水分子可能通过氢键相互作用，导致吸附水的流动性降低，相对于常态水，吸附水的热力学状态也发生显著变化。然而，水能否与所有潜在吸收部位结合取决于固体先前的状态和理化性质。因而，无定形聚合物体系中水与固体的相互作用是个动态的关系，主要取决于水的活度和温度。

3. 吸水性研究中比表面积计算的意义

根据表 3 至表 5 中的 W_m 简单地计算出比表面积，得到表观的比表面积为 300～500m^2/g[61,64]。然而，从非极性气体（氮和氪）吸附研究中得到的比表面积约为 1m^2/g，且不依赖样品的预处理。

有趣的是，Nakai 在对微晶纤维素的球磨研究中发现（表 4）[66]，因为样品被粉碎，从吸水研究中得到的 W_m 的增加程度比比表面的增加程度大得多。实际上，如前所述，水分的吸收与无定形物质的量呈一定比例，表明水分吸收进入这种物质的无定形区域。因此，对于此类物质，可以直接从吸水数据计算出校正的比表面积[64]。

4. 水作为增塑剂的作用

固体内部如吸收了大量的水将会影响固体的性质。例如，在图 4 的吸附-解吸等温线中，存在明显的滞后现象。材料的无定形组分含量越高，这种现象越明显。Levine 和 Slade 证实了水有非常低的玻璃化转变温度，可以起到增塑

剂的作用，能降低无定形聚合物的玻璃化转变温度 T_g。相对分子质量低的无定形固体也有类似的现象。要知道，固体的黏弹性在 T_g 以上表现为橡胶态，在 T_g 以下表现为玻璃态，变化明显。因而，固体在不同的水分含量和一定的温度下物理性质会发生变化[13,14]。Oksanen 和 Zografi 对于 PVP 的研究表明[13]，在吸湿等温线开始急剧上升时的含水量与把 T_g 降低到等温线的温度时的含水量密切相关。图 5 显示了温度在－40～60℃范围内 PVP 的吸湿等温线[13,88]。从图中可以明显看出，当温度降低时，等温线的拐点显著地向更高含水量的方向移动。为说明这一点，请注意图 5 没有将 T_g 降至－40℃且含水量为 0.674g/g 时的情况，等温线在整个相对湿度范围内接近一条直线。进一步研究发现，温度 T_g 在 60℃、30℃、－20℃和－40℃时的含水量 $[W\ (T_g=T)]$ 分别为 0.205g/g、0.313g/g、0.553g/g 和 0.674g/g。据 Oksanen 和 Zografi 报道[13]，纤维素和弹力蛋白（一种蛋白质）也有类似的关系，它们从玻璃态向橡胶态的转化符合它们各自等温线的向上拐点。

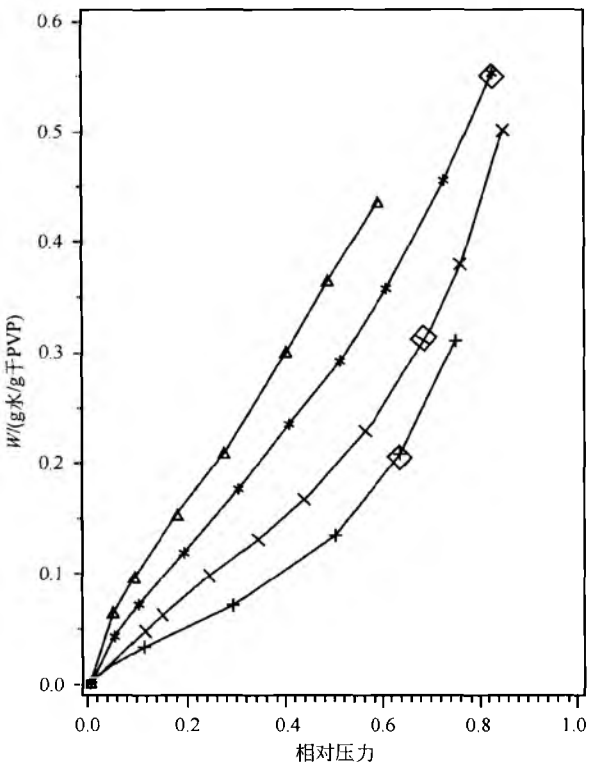


图 5　PVP 在 60℃（＋）、30℃（×）、－20℃（＊）、－40℃（Δ）时的吸湿等温线。数据来源于 Olsanen 和 Zografi[76,78]。◇表示将 T_g 降低至等温线温度时所需的含水量的计算值

Hancock 和 Zgrafi 后来的研究表明[89]，PVP、羟丙基甲基纤维素和聚甲基丙烯甲酯的玻璃化转变温度与吸水量成反比，可用简化的 Gordon-Taylor/Kelly-Bueche 方程表示

$$\frac{1}{T_{g(mix)}}=\left(\frac{W_1}{T_{g1}}+\frac{W_2}{T_{g2}}\right) \qquad (16)$$

式中：W_1、W_2 是 T_g 为 T_{g1}、T_{g2} 时组分的吸水质量分数。

结果很清楚地表明，无定形固体材料的黏、弹性在固体由玻璃态转化为橡胶态时发生了显著变化。产生这些变化的原因是含水量固定时温度提高了，或者是温度不变含水量增加了，或者是这两种效应的综合。对于干燥的无定形体，低于玻璃化转变温度 50℃时，固体中分子的移动性明显增加[91]。类似的，由于吸附水的增塑效应，分子的移动性也会增加。表明有必要将无定形体系的温度保持在至少低于玻璃化转变温度 50℃以下，以避免在储藏期物体的物理、化学和（或）机械性质发生变化。其他一些性质也可能受到影响，包括片子的压制[92,93]，明胶胶囊的脆性[14,94]，冻干无定形粉末的塌陷[88,95,96]，蛋白质的稳定性[97,98]，以及与无定形聚合物混合的、相对分子质量低的、对水敏感的药物的稳定性等[99]。

加工过程中药用固体的吸水性

了解晶体或无定形态的吸湿机制可以从概念上估算临界点，在临界点时物质的理化性质，如 RH_0、晶体水合的相对湿度、玻璃转化温度，会发生很大的变化，而固体药物的制备工艺，如研磨、喷雾干燥、压片、冷冻干燥等，常常导致大部分药物至少部分转化为高能态[100～107]。这些局部的变化与化学反应性的升高[101～108]以及与热力学稳定晶型相关的溶解度的增加有关。这些区域被称为固体的“热”点，使固体处于激活态[15,100～107,109,110～113]。

固体加工中存在的这种不均一性使得这些材料的吸水性变得复杂，因为必须考虑多种吸附机制。当只有很少一部分无定形材料存在时，这将非常困难，研究很难成功，因为需要用实验技术来完成整个分析工作[114,115]。然而，相对较少比例的无定形材料能吸收相当多的水分，导致吸水部位发生很大变化，影响物料的总体性质[100]。这对于相对分子质量低的物质尤为重要，因为其分子移动性整体比高分子聚合物要高，所以很容易发生重结晶。将氯化钠和水杨酸钠放入乳钵中碾磨 15min 就会产生这样的现象[48]，重结晶样品随着相对湿度的增加比表面积并没变化，而碾磨样品随着相对湿度的增加比表面积显著减少。图 2 说明重结晶和碾磨样品比表面积相同时吸湿曲线不同，在相对湿度较低时，碾磨样品比重结晶样品能吸收更多的水，而在相对湿度较高时，重结晶物质能吸收更多的水。碾磨样品吸水容量的相对减小可以归因于随着相对湿度增加其比表面积减少，这是因为在这种物质的无序表面发生了重结晶[48]。Fukuoka 等已经证实许多药物确实能制成无定形体，而且，玻璃转化温度范围较宽，243～354K，如阿司匹林、黄体酮、苯巴比妥、磺胺二甲基氧嘧啶的 T_g 分别为 243K、279K、321K 和 339K。

与无定形聚合物类似，相对分子质量低的无定形物质随着含水量增加其 T_g 降低[117]，从而具备适合重结晶的条件。实际上，相对分子质量低的无定形体在 T_g 以下有足够的分子移动性[118]。在一些可能存在多种固体形态的体系

Y

中，水的活度或含水量会影响固体的晶型[119]。可是非水合且相对分子质量低的无定形体系的重结晶会导致大量的水释放到顶空中[15,48,103,104,120]。这种水分下降对体系的物理、化学、机械性质会产生附加影响[17,48,100]。

为了定量解释这种现象，参考 Ahlneck 和 Zografi 对蔗糖样品的讨论[100]。假设所有水分都是由材料的无定形部位吸收的，对于含水量为 0.5%、1.0%、2.5%和 5%的无定形固体，在总水分为 0.1%时，无定形部位吸收的水分分别占 20%、4%、10%和 20%。这类体系无定形部位的玻璃转化温度为 9～49℃[87,100]。所以，如果最初无定形体的数量相对较少（如<1%），室温时固体状态性质会发生明显变化。即尽管材料含水量低，但固体中无定形区域也会发生明显变化，最后通过分子移动而影响固体材料的性质[100]。

在处方中加入较高 T_g 的无定形物质，可以抑制因吸湿引起的分子移动增加和随后的 T_g 降低。产生这种净效应的原因就是增加了分子间的相互作用，升高了体系的 T_g，使得分子移动再次降低（高黏性），从而不会发生不被期望的性质变化[107,121,122]。

通过影响材料的结构变化可以逆转相对分子质量低的无定形系统的重结晶。例如，喷雾干燥乳糖一水合物能够产生一种由 X 射线衍射确定的完全由无定形体组成的材料。然而，乳糖在溶液中发生了异头旋转，分子的基本结构发生了变化。这种变化对无定形乳糖吸水和水的平衡影响很大。含水量的增加将会抑制玻璃化转变温度达至发生重结晶。然而，由于有两种不同形式的乳糖存在，其中一种在晶体状态是无水的，所以制造的材料是不同的。此外，在湿度较高时，β-无水晶体在固体态会发生结构改变并生成 α 型一水合物。对收集的数据进行评价，首先要对可能存在的固体的性质仔细定性[16,17,123～125]。

经过顶空而发生的固体组分间水分的转移

将在不同的相对湿度下平衡的固体组合成一个系统，将是一个热力学不稳定的体系，这是因为系统中的水分分布有一种趋势，使顶空达到单一的相对湿度。如图 6 所示，水分从相对湿度较高时平衡组分中解吸至顶空，然后吸附至在相对湿度较低时平衡的组分中，此过程将一直持续到两种固体样品在最终的相对湿度下平衡。如果知道每个固体组分的吸水等温线、起始的含水量、干燥质量、顶空体积和温度，就可以利用吸附－解吸水分转移模型（SDMT）[126]预测样品最后的相对湿度。每种固体的最终含水量可以很容易地从各自的等温线中得到。

要获得最后期望的相对湿度而设计的体系，已经证明 SDMT 模型可以用对体系中各组分起始含水量的最优化。至今的实际应用包括避免胶囊脆化而在胶囊填充前对起始 LOD 处方进行调整[94,127]，选择恰当的处方含水量和干燥剂的量以维持容器中的相对湿度低于某一特定值[128]，为了

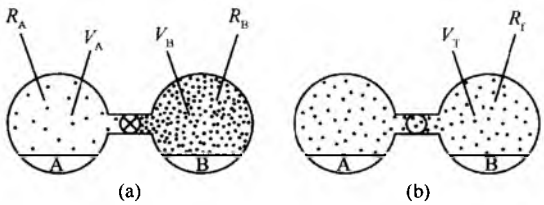


图 6 图示固体组分 A、B 间水分的转移。(a) 相互隔开的顶空；(b) 进行平衡的顶空。R_A 和 R_B 为 A 和 B 的初始相对湿度；V_A 和 V_B 分别为 A 和 B 的顶空体积；F_f 和 V_T 分别为最终的相对湿度和顶空体积[126]

药品的稳定性而选择合适的干粉吸入装置和包装条件等[129]。

总结

水分存在于所有固体药物及其制剂以及大部分制造技术中。开发人员要更好地理解水在特定体系中所起的作用，就必须了解水分存在的部位、状态、影响各种材料及其混合物性质的方式、最后产品的性能和完整性等，更为重要的是失水或吸水的动力学、平衡吸收值与相对湿度的关系、水是存在于材料表面还是被吸收进入内部、与固体结合的程度，由不只一种固体组成的体系中水重新分配的趋势。尽管药物体系中水与固体间的相互作用非常复杂，但将这些基本概念应用于产品开发将有助于理解水在影响固体材料理化性质中的作用。

参 考 文 献

1. Carstensen, J. T. Pharmaceutics of Solids and Solid Dosage Forms; John Wiley & Sons: New York, 1977; 11－15.
2. Lewis, G. N.; Randall, M.; Pitzer, K. S.; Brewer, L. Thermodynamics; McGraw-Hill: New York, 1961.
3. Gal, S. Vapor Sorption Equilibria and Other Water-Starch Interactions: A Physico-Chemical Approach; Van den Berg, C., Ed.; Agricultural University: Wageningen, The Netherlands, 1981; 10.
4. Brunauer, S.; Emmett, P. H.; Teller, E. J. Am. Chem. Soc. 1938, 60, 309.
5. Langmuir, I. J. Am. Chem. Soc. 1918, 40, 1361.
6. Fowler, R.; Guggenheim, E. A. Statistical Thermodynamics; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1939.
7a. Hill, T. L. J. Chem. Phys. 1946, 14, 263.
7b. J. Am. Chem. Soc. 1946, 68, 535.
8a. Cassie, A. B. D. Trans. Faraday Soc. 1945, 41, 450.
8b. Trans. Faraday Soc. 1945, 41, 458.
9. Lowell, S. Introduction to Powder Surface Area; John Wiley & Sons: New York, 1979.

10. Hollenback, R. G.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 1599.
11. Guggenheim, E. A. Applications of Statistical Mechanics; Clarendon Press: Oxford, 1966.
12. deBoer, J. H. The Dynamical Character of Adsorption, 2nd Ed.; Clarendon Press: Oxford, 1968.
13. Oksanen, C. A.; Zografi, G. Pharm. Res. 1990, 7, 654.
14. Levine, H.; Slade, L. Water Science Reviews; Franks, F., Ed.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1987; 3, 79—185.
15. Makower, B.; Dye, W. B. Agr. Fd. Chem. 1956, 4, 72.
16. Buckton, G.; Darcy, P. Int. J. Pharm. 1996, 136, 141.
17. Buckton, G.; Darcy, P. Int. J. Pharm. 1997, 158, 157.
18. Anderson, R. B. J. Am. Chem. Soc. 1946, 68, 686.
19. Van den Berg, C. Vapor Sorption Equilibrium and Other Water-Starch Interactions: A Physico-Chemical Approach; Agricultural University: Wageningen, The Netherlands, 1981.
20. Flory, P. J. Principles of Polymer Chemistry; Cornell University Press: Ithaca, New York, 1953.
21. Hailwood, A. J.; Horrobin, S. Trans. Faraday Soc. 1946, 42B, 84.
22. Vrentas, J. S.; Vrentas, C. M. Macromolecules. 1994, 27, 4684.
23. Vrentas, J. S.; Vrentas, C. M. Macromolecules. 1994, 27, 5570.
24. Hancock, B. C.; Zografi, G. Pharm. Res. 1993, 10, 1262.
25. Van den Berg, C.; Bruin, S. Water Activity: Influences on Food Quality; Rockland, L. B., Stewart, G. F., Eds.; Academic Press: New York, 1981.
26. Venkateswaren, A. Chem. Rev. 1970, 70, 619.
27. Martin, A.; Swarbrick, J.; Cammarata, A. Physical Pharmacy; Lea & Febiger: Philadelphia, 1983; 510—512.
28. Fisher, L. R.; Israelachvili, J. N. Chem. Phys. Lett. 1980, 76, 325.
29. Zografi, G. Drug Devel. Ind. Pharm. 1988, 14, 1905.
30. Etzler, F. M.; Fagundus, D. M. J. Colloid Interface Sci. 1983, 93, 585.
31. Greenspan, L. J. Res. N. B. S. 1977, 81A, 89.
32. Rockland, L. B.; Nishi, S. K. J. Food Technol. 1980, 34, 43.
33. Winston, P. W.; Bates, D. H. Ecology 1960, 41, 232.
34. Stokes, R. H.; Robinson, R. A. Ind. Eng. Chem. 1949, 41, 2013.
35. Weast, R. C., Ed. Handbook of Chemistry and Physics, 6th Ed.; Chemical Rubber Co.: Cleveland, 1986—1987; E—42.
36. Ward, G. H.; Schultz, R. K. Pharm. Res. 1995, 12, 773.
37. Bergren, M. Water-Solid Interactions; AAPS Short-course: Orlando, FL, 1993.
38. Spancake, C. W.; Hastedt, J. E.; Venero, A. F. Pharm. Res. 1993, 10, S—280.
39. Kontny, M. J. Water Vapor Sorption Studies on Solid Surfaces; University of Wisconsin-Madison: Madison, WI, 1985.
40. Van Campen, L.; Zografi, G.; Carstensen, J. T. Int. J. Pharm. 1980, 5, 1.
41. Van Campen, L.; Amidon, G. L.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1983, 72, 1381, 1388, 1394.
42. Handbook of Chemistry and Physics; Weast, R. C., Ed.; Chemical Rubber Co.: Cleveland, 1986—1987, D—189—190.
43. Kontny, M. J.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1985, 74, 124.
44. Bergren, M. Int. J. Pharm. 1994, 103, 103.
45. Barraclough, P. B.; Hall, P. G. Surf. Sci. 1974, 467, 393.
46. Walter, H. U. Zeitschrift fur Physikalische Chemie Neue Folge Bd. 1971, 75, S287.
47. Ladd, R. A. Surf. Sci. 1968, 12, 37.
48. Kontny, M. J.; Grandolfi, G. P.; Zografi, G. Pharm. Res. 1987, 4, 104.
49. Byrn, S. R. Solid State Chemistry of Drugs; Academic Press: New York, 1982; 149.
50. Saleki-Gerhardt, A.; Stowell, J. G.; Byrn, S. R.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 318.
51. Conners, J. J. Unpublished data.
52. Cox, J. S. G.; Woodard, G. D.; McCrone, W. C. J. Pharm. Sci. 1971, 60, 1458.
53. Kontny, M. J. Unpublished data.
54. Ross, K. D. Food Technol. 1975, 29, 26.
55. Edgar, G.; Swan, W. O. J. Am. Chem. Soc. 1922, 44, 570.
56. Adams, J. R.; Merz, A. R. Ind. Eng. Chem. 1929, 21, 305.
57. Prideaux, E. B. R. J. Soc. Chem. Ind. 1920, 39, 182.
58. Markowitz, M. M.; Boryta, D. A. J. Chem. Eng. Data 1961, 6, 16.
59. Van den Berg, C.; Kaper, F. S.; Weldring, J. A. G.; Wolters, I. J. Food Technol. 1975, 10, 589.
60. Van den Berg, C. Water Activity: Influences on Food

Y

Quality; Rockland, L. B., Stewart, G. F., Eds.; Academic Press: New York, 1981; 1—61.
61. Zografi, G.; Kontny, M. J. Pharm. Res. 1986, 3, 187.
62. Hancock, B. C.; Zografi, G. Pharm. Res. 1994, 11, 471.
63. Wurster, D. E.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. Starch 1984, 36, 294.
64. Zografi, G.; Kontny, M. J.; Yang, A. Y. S.; Brenner, G. S. Int. J. Pharm. 1984, 18, 99.
65. Stamm, A. J. Wood and Cellulose Science; The Ronald Press Co.: New York, 1964.
66. Nakai, Y.; Fukuoka, E.; Nakajima, S.; Hasegawa, J. J. Chem. Pharm. Bull. 1977, 25, 96.
67. Mitrevej, A.; Hollenback, R. G. Pharm. Tech. 1982, 6, 48.
68. Gordon, R. E.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. Drug Devel. Ind. Pharm. 1984, 10, 833.
69. Callahan, J. C.; Cleary, G. W.; Elefant, M.; Kaplan, I.; Kensler, T.; Nash, R. A. Drug Devel. Ind. Pharm. 1982, 8, 355.
70. Etzler, F. M.; Conners, J. J. Therm. Acta 1991, 189, 185.
71. Rupley, J. A.; Yank, P. —H.; Tollin, G. Water in Polymers; Rowland, S. P., Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 1980; 111—132.
72. Nagashima, N.; Suzuki, E. —I. Appl. Spectroscopy Rev. 1984, 20, 1.
73. Duckworth, R. B. J. Food Technol. 1971, 6, 317.
74. Hennig, H. J.; Lechert, H. J. Colloid Interf. Sci. 1977, 62, 199.
75. Mousseri, J.; Steinberg, M. P.; Nelson, A. I.; Wei, L. S. J. Food Sci. 1974, 39, 114.
76. Tait, M. J.; Ablett, S.; Wood, F. W. J. Colloid Interf. Sci. 1972, 41, 594.
77. Tait, M. J.; Ablett, S.; Franks, F. Water Structure at the Water-Polymer Interface; Jellinek, H., Ed.; Plenum Press: New York, 1972; 29—38.
78. Carles, J. E.; Scallan, A. M. J. Appl. Poly. Sci. 1973, 17, 1855.
79. Hsi, E.; Voight, G. J.; Bryant, R. G. J. Colloid Interf. Sci. 1979, 70, 338.
80. Froix, M. F.; Nelson, R. Macromolecules. 1975, 8, 726.
81. Fish, B. P. Fundamental Aspects of the Dehydration of Foodstuffs; Soc. Chem. Ind. (S. C. I.): London, 1958; 143—157.
82. Duckworth, R. B.; Smith, G. M. Recent Advances in Food Science; Leitch, J. M., Rhodes, D. N., Eds.; Butterworths: London, 1962; 3, 230—238.
83. Etzler, F. M. J. Colloid Interf. Sci. 1983, 92, 43.
84. Oksanen, C. A.; Zografi, G. Pharm. Res. 1993, 10, 791.
85. Urquart, A. R.; Williams, A. M. J. Textile Inst. 1924, 15, 550.
86. Smith, L. S. A.; Schnitz, V. Polymer. 1988, 29, 1871.
87. Slade, L.; Levine, H. Pure Appl. Chem. 1988, 60, 1841.
88. Mackenzie, A. P.; Rasmussen, D. H. Water Structure at the Water-Polymer Interface; Jellineck, H. H. G., Ed.; Plenum: New York, 1972; 146—172.
89. Hancock, B. C.; Zografi, G. Pharm. Res. 1994, 11, 471.
90. Gordon, M.; Taylor, J. S. J. Appl. Chem. 1952, 2, 493.
91. Hancock, B. C.; Shamblin, S. L.; Zografi, G. Pharm. Res. 1995, 12, 799.
92. Shukla, A. J.; Price, J. C. Pharm. Res. 1991, 8, 336.
93. Amidon, G. E.; Houghton, M. E. Pharm. Res. 1995, 12, 923.
94. Kontny, M. J.; Mulski, C. A. Int. J. Pharm. 1989, 54, 79.
95. Mackenzie, A. P. Freeze Drying and Advanced Food Technology; Goldblith, S. A., Rey, L., Rothmayr, W., Eds.; Academic Press: New York, 1975; 277—307.
96. Costantino, H. R.; Curley, J. G.; Wu, S.; Hsu, C. C. Int. J. Pharm. 1998, 166, 211.
97. Hageman, M. J. Drug Devel. Ind. Pharm. 1988, 14, 2047.
98. Hageman, M. J.; Possert, P. L.; Bauer, J. M. J. Agr. Food Chem. 1992, 40, 342.
99. Kararli, T. T.; Catalano, T. Pharm. Res. 1995, 12, 923.
100. Ahlneck, C.; Zografi, G. Int. J. Pharm. 1990, 62, 87.
101. Vadas, E. B.; Toma, P.; Zografi, G. Pharm. Res. 1991, 8, 148.
102. Levine, H.; Slade, L. J. Chem. Soc. Faraday Trans. I 1988, 84, 2619.
103. Huttenrauch, R. Acta Pharm. Technol. 1988, 34, 1.
104. Huttenrauch, R.; Frike, S.; Zeielke, P. Pharm. Res. 1985, 2, 302.
105. Otsuka, M.; Kaneniwa, N. Int. J. Pharm. 1990, 62, 65.
106. Hersey, J. A.; Krycer, I. Int. J. Pharm. Technol. & Prod. Manuf. 1980, 1, 18.
107. Hancock, B. C.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 246.

108. Shalaev, E. Y.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 1137.
109. Carstensen, J. T.; Van Scoik, K. Pharm. Res. 1990, 7, 1278.
110. Waltersson, J.-O.; Lundgren, P. Acta Pharm. Suec. 1985, 22, 291.
111. Prout, E. G.; Tompkins, F. C. Trans. Faraday Soc. 1944, 40, 489.
112. Ng, W.-L. Aust. J. Chem. 1975, 28, 1169.
113. Hasegawa, J.; Hanano, M.; Awazu, S. Chem. Pharm. Bull. 1975, 23, 86.
114. Saleki-Gerhardt, A. Estimation of Percent Crystallinity in Milled Samples of Sucrose; University of Wisconsin-Madison: Madison, WI, 1991.
115. Buckton, G.; Darcy, P. Int. J. Pharm. 1999, 179, 141.
116. Fukuoka, E.; Makita, M.; Yamamura, S. Chem. Pharm. Bull. 1989, 37, 1047.
117. Saleki-Gerhardt, A.; Zografi, G. Pharm. Res. 1994, 11, 1166.
118. Andronis, V.; Zografi, G. Pharm. Res. 1998, 15, 835.
119. Andronis, V.; Yoshioka, M.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1997, 86, 346.
120. Lehto, V.-P.; Laine, E. Pharm. Res. 2000, 17, 701.
121. Yoshioka, M.; Hancock, B. C.; Zografi, G. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 983.
122. Shamblin, S. L.; Zografi, G. Pharm. Res. 1999, 16, 1119.
123. Angberg, M.; Nystrom, C.; Castensson, S. Int. J. Pharm. 1991, 73, 209.
124. Briggner, L. —E.; Buckton, G.; Bystrom, K.; Darcy, P. Int. J. Pharm. 1994, 105, 125.
125. Schmitt, E. A.; Law, D.; Zhang, G. G. Z. J. Pharm. Sci. 1999, 88, 291.
126. Zografi, G.; Grandolfi, G. P.; Kontny, M. J.; Mendenhall, D. W. Int. J. Pharm. 1988, 42, 77.
127. Kontny, M. J. Drug Devel. Ind. Pharm. 1988, 14, 1991.
128. Kontny, M. J.; Koppenol, S.; Graham, E. T. Int. J. Pharm. 1992, 84, 261.
129. Kontny, M. J.; Conners, J. J.; Graham, E. T. Proceedings of Respiratory Drug Delivery IV; Interpharm Press: Engelwood, CO, 1994.

（邓万定 译）

药物开发的管理

James E. Tingstad
Tingstad Associates, Green Valley, Arizona, U. S. A

最成功的新药开发项目需要各方面能干、关心人、以人为本的领导。大量的社会学数据显示：这种方式能优化生产力、效率和创造力，同时能促进员工的成长，培养员工的积极性、合作精神和忠诚度。

药物开发的流程

在讲述好管理的组成元素之前，先简要介绍新药（新的化学实体或 NCE）开发的基本流程。

1. 概况

NEC 在上市之前，须经过以下的研究部门：

化学合成→药理学→毒理学→病理学→注册［新药研究（IND）申请］→产品研究和开发→临床研究→注册［新药申请（NDA）］→经政府注册部门批准

2. 其他重要的部门

与上述部门同样重要的其他部门和学科包括分析化学、生物化学、生物药剂学/药物动力学/药物代谢、化学中试工厂、实验工程学、包装开发和统计学，还有采购和质量保证/文档记录等。

3. NDA 以后的部门

经 NDA 批准后，项目由部分参与 NCE 开发不同阶段的非研发部门接管，包括化工生产、装备、市场、包装、药品生产、质量控制和销售。

4. 部门的职责

公司的组织各不相同，例如，不同的工程可能落实到一个或多个部门。典型的职责简述如下：

（1）化学合成部门合成药理试验所需的 NCE 候选物。

（2）药理学测试 NCE 在动物体内的活性[1]。

- 由于经济的原因，在安全性试验之前用动物测试活性。但在人体必须先进行初步的安全性试验。
 - 毒理学测定 NCE 在动物的“宏观”负面作用。
 - 病理学测定 NCE 在动物的“微观”负面作用。
 - 产品研发为初期的临床试验设计一个简单的初步剂型[2]。
- 人体的安全性/活性试验显示有希望时，才进行进一步的剂型开发。最后，与药品生产商合作进行规模扩大的试验。
 - 进行临床研究确定 NCE 在人体的安全性和有效性。
 - Ⅰ期临床在少数年轻男性志愿者身上进行，测定小剂量的耐受性和安全性。
 - Ⅱ期临床涉及数百名患者，研究疗效、剂量和明显的副作用。
 - Ⅲ期临床，使用数千名患者，扩大了Ⅱ期临床的试验范围，确定安全性和疗效，预测市场前景。
 - Ⅳ期临床，在注册批准和上市后进行，研究其他的医药用途。
 - 注册机构紧密地与所有相关组织部门协作，是与政府管理机构接触的主要部门。
 - 分析化学部建立 NCE 的稳定性分析方法，鉴别和定量杂质，与产品研发部合作进行产品的稳定性研究。
 - 在其他试验中，生物化学部测定 NCE 在细胞水平的作用。
 - 生物药剂学、药代动力学和药物代谢学测定 NCE 的吸收、分布、代谢和排泄。
 - 化学中试工厂为研发部门生产 NCE。
 - 实验工程部帮助设计新工艺和设备。
 - 包装开发部考虑到稳定性和消费者的要求，为新产品开发容器。
 - 统计学参与设计和解释许多 R&D 实验。
 - 采购部与 R&D 协作，保证从供应商处得到一致的高质量原材料。
 - 质量保证/文档部按政府规定的 GLP 和 GMP 管理规范监察流程和记录。
 - 化工生产部提供 NCE 给药品生产部门。
 - 工程部给 NDA 后期部门提供工艺/设备服务。
 - 市场部与销售部和广告部合作，确定整个策略，提供 NCE 产品给主要的客户（医生和医疗保健专家）。
 - 包装部包装并标识生产的药品以供销售。
 - 药品生产部生产成品药，供消费者使用。
 - 质量控制部监测生产和已上市批次药品的质量和稳定性。
 - 销售部为消费者供应产品。

5. 部门之间的相互作用

管理人员和实验室工作人员与其他部门的同事会面，了解不同部门之间的相互关系和内部相关性，并使用这些知识确保相互理解、尊重、支持和合作，这是很重要的。以下是几个例子。

5.1 销售←→所有的研发部门

应该鼓励研发部门管理者和实验室工作人员花费一天或两天（一对一）与销售人员“一起巡回销售”，有两大原因：

（1）研发部人员可以第一手观察到他们工作的成果。

（2）销售人员可以学到与他们所销售药品相关的重要科学知识，同时可以直接告诉研发部人员消费者遇到的问题。

5.2 药物合成←→生物药剂学

口服吸收数据有助于引导合成化学家对 NCE 进行最有希望的结构修饰。

5.3 药物合成←→产品的研发

制剂学家通常喜欢 NCE 水溶性最好的形式，这与药物合成和化工生产关注的高得率产生矛盾。

5.4 生物制剂学←→药理学

互动对双方均有利，但生物药剂学可以帮助药理学家确定无效是否归因于内在的无活性或口服吸收差。

5.5 产品研发←→毒理学

真实的事件：产品研发帮助毒理学确定 NCE 口服给药明显的肠刺激不是由药物引起的，而是由“无毒的”溶剂（甘油）引起的。

5.6 分析化学←→质量控制

分析化学部为研发部门建立稳定性分析方法，然后在产品上市时将其转换成质量控制方法。关于什么是 NCE 合适有效的分析方法，这些部门之间经常发生争执。管理者的相互尊重和合作，再加上自愿的临时部门间轮换，通常可以减少这些困难。

5.7 药品生产←→产品的研发

（1）两个部门在新药开发的适当阶段必须交流（特别是扩大规模时），以确保经济持续地生产出可靠的高质量产品。

（2）实际操作的员工可能感到与学士学位的研发人员交流比博士舒服许多。

（3）不同教育程度的产品研发实验室人员都应该在药品生产部门花一到两个月时间，要实际操作，而不只是观察。

5.8 市场←→所有的研发部门

真实事件：一个市场部经理在研发部实验室参观，他问一位抗生素合成的化学家，抗生素除了治疗活性外最重要的质量是什么？她回答：“没有细菌抗药性。”当这位经理强调市场部最关心的是无副作用时，这位科学家说：“从没有人告诉过我。”

5.9 质量保证和文档记录←→所有研发部门

质量保证和文档部门应被认为是（也应是自认为），按规定操作，起帮助和支持的作用，而不是惩罚。

5.10 实验工程/产品研发←→药品的生产

真实的事件：

（1）实验工程和产品研发部开发了一个电脑控制的自动冷冻干燥程序，并移交给药品生产部门。

（2）空气悬浮粒子/片剂包衣和药品生产压片的电子监控，提高了产品的质量和生产效率。

产品线延长

一旦第一个 NCE 产品通过了政府注册部门的批准，总是要开发其他产品（产品线延长，或 PLE）。PLE 的需求通常来自市场部和销售部，但想法可以来自任何员工和部门，特别来自产品研发部门。大多数 PLE 的注册批准要求比 NCE 低，如要求较少的安全性和临床实验。

药物开发的成功管理

成功的管理包括一系列的思考、态度、感受和熟练的实践，并不是一种简单的（或反效果的）“我是老板，按我说的做”的修养。

1. 成熟的研发工作环境的特征

心理学专家 Abraham Maslow[1] 强调管理者不应该像雕刻家（制模/硬冲/磨利工人），而应该像农民，开创一个多产的工作环境，在那里所有的员工可以学习、成长和尽他们的所能。研发的管理者应该把小组看作一个圆（在这个圆内，每个人都可做重要的贡献），而不是看成通常的老板在金字塔顶点的金字塔结构，这样可以优化团队精神、凝聚力、创新力和绩效。

以下是成熟的研发工作环境的特征：

- 道德规范——很明显，这是首先要注意的。
- 情商——情商是关键，是给予现有的操作工人适当的待遇，即管理者应该问他们自己，他们想雇主怎样对待他们。
- 尊重——作为一个独特的人以及对团队的成功做出了贡献而感受到尊重，这一点与工作场所的其他因素是一样重要的。
- 信任——这与“尊重”是相同的。没有相互间的信任，两个或几个人就不能共同努力。管理者对有责任心员工的真正信任，对有效率的多产工作氛围起决定性作用。
- 关心——管理者需要对员工个人和工作上的事情给予真诚的关心。
- 交流——使员工了解信息会让他们产生自己很重要和参与事情的感觉。仔细倾听和信息多的管理者很快会被好的交流者围住。
- 目标感——管理者和团队成员必须知道他们的部门是如何分成各研发小组的。

Y

· 义务——每个人应对部门长期的健康以及对公司、研发部、小组和个人目标的和谐抱有强烈的使命感。

· 能力和奉献——小组人员能胜任，并信任彼此的能力和奉献精神。

· 紧急的，但是合理、目标明确的活动——活动目标明确，总工作节奏是紧急的，但同时又是沉稳、合理、有准备的。

· 参与——如果每个人感觉能参与计划、决策和部门实现目标的过程，则会提高效率，促进个人成长，提高士气。

· 个性——每个人都想被看成重要的独特个体。

· 容纳——相对于个性，每个人进行真实评价，能容忍甚至欣赏个性，因为“生活的情趣”是多样化的，没有一个人是完美的。

· 礼貌——“好的管理要从好的举止开始，要确保考虑到其他人的行事方式”。

· 亲切、友好、令人愉快——这些是对神经紧张和焦虑的有效矫正法，可以在工作环境中创造与礼貌一样多的宁静。

· 正直、坦率、公开——如果人际关系中所有美好事情的基础是信任，正直、坦率和公开是维系/加强这些关系的基础。

· 稳定、安全、可预知——管理者必须有道德、公平和前后一致不善变。这可使不确定因素和焦虑降到最低，使员工感到安全和放心。更多的精力可以集中于工作。

· 合作——当合作者互相尊重和关心，当所有的人感到安全和对其地位放心时，将会创建这样一个舞台：是合作的，而不是竞争的，是相互尊重和表扬的，而不是忌妒的。

· 认可——每个人的成绩和对组织的价值都应得到认可，因而他们对自己、同事、上司和合作者均会有好感。

· 思虑（为其他人考虑）——可以说没有任何东西比神经紧张更有感染力，但确实还是要随时为其他人考虑。可以采取很多形式，通常是更多地关注他人而不只是自己。这意味着给予而不是索取。

· 真诚、现实——高质量的工作环境有助于员工感觉安全、放心和被接纳。因而，要鼓励他们展示真我，不加掩示。这减少了表面化、自我保护和防范，使员工把精力集中于工作。

· 独立和相互依靠——当员工因为他们的基本价值受到重视，及因为他们的个性受到尊重时，他们产生了强烈的独立感。因而，他们不需要因坚持他们的个性而让其他人负担。当人们自我感觉良好并从同事那儿接受感情支持时，他们便产生了强烈的独立和相互依靠的感觉。

· 团队的凝聚精神——在好的管理下，团队形成一种紧密的、家庭性的工作关系，其中每个成员相互关心、信任和尊重，并且相互信赖。

· 听从——如果前述的个性起作用，管理者向操作工人征求并听从意见，团队成员适当时将会互相听从彼此的专长意见和判断。

· 自豪（但不傲慢）——对自己和团队真正的自豪感加强了团队的凝聚力和个人的自信心，并促使形成勇于创新，勇于挑战技术难点的态度。

· 忠诚和积极——当同事们在互相尊重的文明环境中工作，忠诚度和积极性将自发提升。正像拿破仑说的：“任何军队的效力取决于他们的规模、训练、经验和士气……士气比所有的其他因素加起来更有价值。”

2. 可敬和成功的管理实践

下面是对药物开发管理的特别建议，两段引文包括了全部：

荣誉是一个人的质量。荣誉通过一生中的许多小决定慢慢赢得，在这些小决定中，他将同情和公正看得比自己的成功更重——佚名。

成为成功管理者的唯一途径是学习像管理者一样举动。——*Jay Hall*

3. 行为道德

这列为首条，因为任何事物都必须基于坚实的道德准则和行为。研发管理者在一个极其复杂的环境中工作：他们掌有大权，以复杂的方式在操作工人、同事、上层管理者、消费者、地方和国家的政府机构和公民团体中周旋。研发管理者也会面对独特情况，因为经常要凭信念办事。大多数项目包含广泛的实验和复杂的解释，有些包含模棱两可的结果。管理者们必须：

· 信任实验室工作人员的能力和诚实。

· 诚实地应用团队的实验结果。

领导者主要负责道德规范、行为举止及部门的表现。以下为三条获得成功的途径：

· 树立一个好的榜样——管理人员要为团队创造气氛，扮演一个楷模的角色。当雇员观察到老板一贯讲道德时，他们会为自己树立一个相似的高标准。

· 抵制不道德的盲目从众观念——同样的压力支配大多数青少年（“我所有的朋友都这么做……”），但成年人必须抵制微乎其微的不道德举止。

· 创造一个安全、稳定和可预见的工作环境——除非人们是病态的，他们会由于混乱、害怕及不安全感而丧失道德，但不是由于罪恶。当工人因无法完成进度而害怕受惩罚或解雇时，工作将会草率。当研发副总裁害怕其职位陷入危险时，他们可能会操纵通向公司管理层的信息，使他的团队看起来很好。

总之，领导者需要有直率、坦诚、正直的品质。如果没有，他们会有操纵人与情况的危险。

4. 移情（管理的黄金准则）

作为成功管理的六个基础之一，移情的重要性再怎么强调也不过分。在管理者做出影响员工的决定前（阅读“几乎所有的决定”），他们需要记住管理的黄金准则：我喜

欢怎样被对待？这个管理举措几乎是永远正确的。下面给出两个例子。

4.1 晋升

案例 A：一个资深的实验室科学家相信他应该晋升一级，于是他向他的上级提出这个问题；上级告诉他有晋升潜力，但尚不能确信他已经充分地证明了他自己。19 个月后他获得了晋升。

案例 B：一个资深研究科学家的管理者到他的实验室，告诉他已经晋升一级。这个科学家很惊喜，他从未预料到会在隔年就晋升。管理者说这或许有些早了点，但基于他的表现和明显的潜质，相信他得到晋升是应该的。

以上的案例表明，管理者需要扮演实验室科学家的角色，并反问他们自己希望自己的老板怎样对待自己。案例 A 或案例 B，哪种情况会振奋他们的精神，激励他们工作更努力？

4.2 把员工当成好意的、负责的成人来对待

案例 A：实验室工作人员发现，无意间，他们没有遵守众多 GLP 规程。当他们把这一情况告诉管理者时，管理者召开部门会议，责备所有的人，命令他们遵守规程，并要求在 3 天内给出完整详尽的报告。

案例 B：当管理者被告知违反 GLP 时，他召开部门会议，感谢他们提醒他这个问题，并询问他们他能帮什么忙、谁愿意负责纠正这个状况以及应制定什么样的最后期限以便能打消老板的疑虑。

又一次，管理者须扮演实验室工作人员的角色，并扪心自问他们更喜欢哪种对待方式，A 或 B。

5. 交流

这里有两种截然不同的关于交流的定义：

（1）交流的目的是为了说服听者同意说话人的观点。在这种情况下，一方不会考虑另一方的立场。大多数时间和精力都花在考虑接下来说什么而不是聆听上。

（2）交流的目的是为了理解。这里强调的是聆听，接收不同的观点，而且可以自由地表达感受。

许多声音（马路上的声音、在派对上的窃窃私语）都是通过聆听的过程获得的。这主要是身体现象，仅靠很少的智力因素，实际上没有情感参与。但当有些人试图交流他们认为重要的事情时，听觉就变得不够充分了；取而代之的是，另一个人需要聆听并理解他在说什么。现在这个过程需要三个要素——身体的、智力的以及感情的——使该过程变得更加复杂。

撇开广义的理解，管理者需要考虑怎样的交流技巧才适用于他们的工作。首先，领导者需要与员工交流，从而知道他或她是哪一类的人。好的工作关系，好的表现的基础，取决于人们是否开始互相了解。发起和鼓励交流从而加深理解是管理者的责任。举例来讲，他至少一年与每个员工见面一次，去发现或做到：

（1）有关个人和工作方面的事情进展怎样。

（2）工作的环境中好的和坏的方面。

（3）总是将部门称为“我们的”，而不是“我的”。

（4）当介绍组里成员给其他人时，总是说“她与我共事”，不要说“她为我工作”。

（5）鼓励以名称呼自己，因为人们在以名相称时，阶层差距便会消失。

（6）争取在开部门会议时第一个到。有很多的管理者，有各种各样的理由，等到其他人都已经聚集齐了才走进会议室。让别人等是一种不尊重的内在表现，不管故意与否。

（7）在大布告板上“紧急”、“新的”以及“旧的”类别下张贴所有非保密的公告和通知。只要这些举动代表管理者试图真诚地表达，每一个组员都是很重要的，就不算花招。

另一个颇有价值的交流工具很少被运用——由管理者进行的匿名员工意见调查，包括人力资源部和其他部门。每年，员工都要求回答三道问题并交到秘书处，秘书将汇总所有的答案：

（1）我喜欢自己工作的哪些方面。

（2）我不喜欢自己工作的哪些方面。

（3）我的老板做什么能让事情变得更好。

接着（也是最重要的），管理者必须召开部门会议，请团队来决定改善工作环境优先要做的事。

6. 组织

6.1 实验室操作工

专家认为任何公司的首要问题是未充分利用员工。这源于管理者没有欣赏他们的才智和潜质。Douglas McGregor[2]说，如果给予机会，大多数人喜欢工作，并自我引导和自控。他们能很好地受到激励，负担起责任，如果管理者允许，可以在公司的运作中成为主要的积极力量。

例如，当硕士层次的实验室工作人员（助理科学家）能把工作做得非常好时，博士（科学家）经常是非正式的项目负责人，允许这些博士作为众多课题的理论科学顾问。接着拥有高中学历或者 2 年制学位的实验室助手们（技术员或者科学家助手）在少许的监督下能完成大多数实验室日常工作，而不是作为“一双手”被对待。当员工感觉到尊重、受到鼓励和承担起足够多的责任时，必要时他们会咨询高层的科学家，以减少错误并保证团队的成功。

6.2 一线管理者

团队负责人或部门负责人需要负责大约 15 个实验室工作人员，并将他们自己视为管理者，而不是超级科学家。非管理者的博士需做出大部分科学决定。团队负责人或部门负责人需集中精力成为一个成功的管理者。

6.3 管理

大多数组织有太多的管理。应尽量减少各个层次上的管理人员数量。

Y

7. 管理

Douglas McGregor 称管理者要扮演助手、老师以及同事的角色。她很少设想自己是有权威的老板。Tom Peters 认为“领导是仆人”。操作工得到结果；管理者的主要工作是支持他们以及帮助他们排除那些妨碍他们做好的障碍。最好的管理者会问员工她能帮些什么忙；她要协助员工做这项工作，而不是确保这项工作的完成。

许多负责人感到这种方式减少了他们的组织权力（用“权力”较贴切），但是恰恰相反。

（1）由于同雇员讨论能搞清每个人的状况，管理者能更清楚地“监察”；

（2）管理者被员工视为帮助者而非命令发布者，由于员工与管理者的频繁互动加强了控制和交流；

（3）视员工为有能力、有责任的成年人，将极大提升她在他们中的影响。

8. 控制

控制的原始意义是指操控一艘密闭的船。老板监视每个人和每件事，告诉雇员该做什么和什么时候做，以及亲自做出所有的重要决定。但这使负责人与操作工成为对手，导致管理者对这鸿沟里到底发生了什么知之甚少。相反，适当的（非独裁的）控制意味着强调雇员的简单自控，因为大多数人是可信赖的。这在研发这样的强调高技术、高创造力和创新的机构里尤为正确。

Peter Drucker、Tom Peter 和 Douglas McGregor 有以下的观点：

（1）Drucker 称为了提高效率，工人需要控制他们的工作；控制是雇员的工具，绝不是主管的。

（2）Peters 称此控制自相矛盾：少即是多。减少核心控制，加强实际操作者的真实自控会转变为更紧密的全局控制。

（3）McGregor 相信成功的监督很大程度取决于管理者预知和控制人们行为的能力，即控制的本质是选择性适应。人们控制他们周围的自然世界，不是通过期待自然去执行他们的命令，而是通过他们按自然规律来调节自己的行为。例如，人类不能通过命令地表水向上流来控制它，而是挖一个水沟，适应水要遵循地心引力规律的事实。

同样地，有效的管理控制包括将员工的精力、兴趣以及能力转变，以符合组织的项目要求。管理依据人的本性调节其决定和行动，来控制生产力，并不是告诉人们要做什么且希望盲目服从。

9. 授权

管理者需要授权委托，因为员工喜欢、需要和要求按他们自己的方式做事。聪明的领导只有在向实验室工作人员咨询后，再分配研究课题给他们，而且最好在部门会议时进行。因为对于谁有时间、谁有资格以及怎样分配责任是最好的等问题，实验科学家要比管理者有好得多的感觉。

同样，当员工成为分配工作过程中的一部分时，他们会感觉更受尊重。

9.1 授权，不是转移

由于在任何组织中最大的浪费是不能充分利用员工，所以授权是有意义的。然而，太多的领导混淆了授权和转移。授权指分配职责和权力给一个代表。转移意味着将任务交托给一个下级职位的人。当管理者给员工一项狭小、仆人一样的任务并期望他们尽可能将所有“授权”的工作准确完成时，他们这样的举动是转移，而不是授权。

9.2 授权的目的

真正的授权有三个主要目的：

（1）减轻管理者部分的工作量以使他们能有更多的时间思考、计划、学习以及成长。

（2）把工作和责任从组织阶梯向下挪得远远的，提高效率。

（3）给所有员工最大限度的挑战和机会，让他们成长，即使不能马上正式晋升。这样能提高效率和培养将来的领军人物。

与这些目的一致，恰当的授权有两个显著的特点：

（1）大多数授权的工作是管理者工作中很有意义的部分而不是苦差事。

（2）允许甚至鼓励工人，按照他们自己的方式去做那些授权的工作。仅仅在他们有需要时，管理者才会帮助他们。

案例学习：在 Bullitt 的电影里，一个警官负责一个案子，一个强势的美国参议员对此案十分感兴趣。这个参议员不喜欢这个警官的调查方式，所以他对此警官的上司（上尉）施压。强制他按照截然不同的方式进行。此时，上尉同意参议员，但拒绝干预，说：“这是他的案子，参议员。”

10. 监督

管理者要么是独裁主义者（操纵一个密闭的船），要么是聪明的。他们要么是愚蠢地花费大量的宝贵时间监督员工的操作，要么是聪明地将职责授权给大多数员工，从而提高生产率和维护秩序，促进成长，以及将更多的时间分配给更大的长期课题。

在一个好的工作环境中，监督的动力源于后者，而不是前者。后者关注过程。管理者信任员工，觉得并不需要对操作进行密切监督。与此同时，雇员们渴望管理者了解自己对工作及部门发展的兴趣以及自己所授权工作的进展或问题。

另外，权威的监督会产生相反的结果。

· 工作人员会不由自主地觉得管理人员不信任他们——否则为什么会两个人做一个人的工作？大多数员工会觉得，恰当地说，监督进展及指出问题是他们工作的一部分。

• 这种情况本质是愚蠢的，员工觉察到愚蠢的管理，会导致不尊敬和疏远。

• 当工作人员看到他的上司在重复他做的事情的时候，他会失去对仔细监督工作的兴趣。

• 管理很少能将低层次的任务完成得出色。给予操作工这样具有挑战性的工作，他们会更有动力并将其恰当地完成。

• 效率和生产率受损，不仅因为重复，也因为员工们被强制花时间训练管理者这些细节。

• 如果管理者潜心于琐事，他们会过多地干涉工人的工作，“煮得太多会坏了一锅汤”，管理也是如此。

11. 调解

管理的任务从不出现在工作的描述中，然而，它对提高文化、环境以及研发运行的表现很重要。

世界不是一个公平的地方，在工作的世界里甚至公平更少。为什么？在一个自由的社会中，成年人绝大多数自己做决定，但在工作场所，管理和公司准则处于支配地位。雇员感觉易受打击，“只重结果”的管理会影响他们的表现和健康。

在有工会的组织中，代理或干事作为雇工的调解者（虽然研发科学家很少是工会的一部分）；在没有工会的公司里，人力资源部通常作为这个角色。管理者很少被看成是员工的调解者，管理者也很少自我察觉到。事实上，员工经常认为老板是一个强有力的对手——他们更加有理由需要一个调解者！当员工和管理者将自己视为对手时，所影响的是生产力，更不用说忠诚度和积极性了。

11.1 管理者作为调解者

在一个管理良好、以人为本的组织中，每一个雇员最主要的调解者是上级监督者。其不仅在最好的位置上了解和帮助工作人员，也是生产力、忠诚度及积极性提高的主要受益者。经验显示：如果工作人员相信他们的管理者是为了他们并想让他们成功，是一个帮助者和推动者而不是一个工头，他们会很愿意为管理者做任何事。事实上，当管理者在承受很大的压力和麻烦时，角色将颠倒，雇员将争相为其提供帮助。

一些管理者认为他们不会成为调解者，也不会是对手，而是一个公平的裁判。然而，社会学专家已经指出：管理者不比其他任何人有更多的理性和公平，每个人均受个人偏见的困扰。此外，严格的公正通常导致非人性的待遇，没有人喜欢被人作为“微不足道的人”。怎样使管理者成为员工的个人和组织事务的调解者呢？

11.2 个人调解的指南

• 管理者应该了解每个人是一个个体并在相互信任、尊重和关心的基础上增进关系。接着，给员工关心会让他们感觉很舒服，管理者能给雇员最适宜的帮助。

• 管理者需要成为员工有理解力的观察者，不是检查他们，而是找出微小的困难迹象。例如，如果一个热情的人在工作时变得非常安静，并且持续了一个或两个星期，管理者或许会说：“我不喜欢管闲事，但是不是出了什么问题？需要我帮什么忙吗？”如果员工不想说，管理者不能强迫，而是观察事态。对一个人表现出真正的兴趣有积极的影响，即使他们或许不信赖上司。当一个雇员的表现开始走下坡路时，管理者非常确信这不是因为他本人的行为或者无为，最好不要去侵犯隐私，而视员工为一个成人并给他每个机会使其走出困境。

• 如果雇员的表现持续恶化，此时，管理者需要和他面谈。但如果她已经同她的雇员建立了良好的关系，他在出现问题时就会信赖她。如果管理者发现自己对一个在困境中的雇员失去了耐心，最好能再等一段时间，这通常是有利的。人们欣赏一个上司在他们陷入困境的时期能表现出耐心和信任。

• 当员工信赖管理者时，他会避免给出建议，除非被问及。任何陷入困境的人找到管理者寻求帮助时，首先需要一双同情的耳朵，然后是适当的保证。

• 甚至当员工要求管理者给出建议时，如果管理者简要说明可选的方式及其优缺点，双方最好分开，把最终的决定留给员工。

• 管理者不要试图做太多。如果他感觉专业的帮助可能是较适宜的，提出建议或推荐公司的员工协助计划，或许是可行的。

11.3 组织调解的指南

不是所有的问题都是针对个人的或极其困难的。对一个管理者来讲，最好是利用管理的灵活性直接处理这种问题，如暂时停顿的提升、一个与其他部门的长期问题、与同事间紧张的状态或不和以及对不清楚或明显不公平的公司政策的怨恨。当管理者对形势有把握时，不提建议的规则可以缓和形势。员工不期望管理者为他们解决所有的问题，但他们的确期望上司在必要的时候试图帮助他们。

起调解作用的管理者是员工和公司间的一座桥梁，在这座桥梁上最重要的梁是“忠诚度的起伏”。员工需要感觉到管理者是真心对待他们，而管理者需要相信下属也会关心公司的利益。如果管理者作为员工强有力的调解者出名，当不能协调的冲突发生时（假设没有违反道德规范或法律），他可以站在公司这一边，但不会使她与雇员的关系紧张化。

管理者主要的责任之一是为员工的生产力扫除障碍。这也可以看成是调解，因为这样的协助能改善员工的状况。

12. 庇护

这是在工作描述中缺少的另一项管理任务，但它非常重要，特别在高压的、一个星期工作 60 个小时的日子里。什么是庇护？它就是无论外面天气如何，屋顶、外墙以及房屋的窗子都能给居住者一个周到的、安全的环境。所以，管理者同样需要创造一个适宜的工作气氛来保护操作员工。

保护他们什么呢？任何组织都存在压力、对抗、公司

Y

的官样文章以及空虚——使人不愉快和精神涣散。例如，或许一个令人紧张、刻薄的研发副总裁不满足于按部就班的研究工作，经常严厉指责部门管理者要加快速度并提高生产力。在这种情形中，一个很强的趋势是将至少部分不愉快的事和压力转化给操作员工——“找自己的宠物狗发泄”。这种反应，不仅使管理者减轻了部分挫败和怨恨，也使他们更加坚信自己，并试图让他们的老板相信，这是他们团队人员的底线。不幸的是，这种反应严重破坏了团队的工作环境，很可能降低，而不是提高其表现，特别在研发中，创新和创造要求一个积极的环境。

为避免这种令人不快的问题，管理者需要尽可能承受压力和不愉快的事来防止破坏团队高效、相对安静的工作环境。通过承担大部分的重任，管理者保护其部门免受公司别处差劲管理的影响。这并不意味着合理的压力和紧急情况不能渗透，特别当危机被看成对整个团队的挑战时，员工也会以活力和积极性做出反应。但没有人会在他们被不断催促“快！快！快!”时表现出色，“如果你没有时间将其做好，你会在哪里找到时间完成它呢?”

庇护的成功高度取决于团队中相互尊重和信任的程度。在一个强烈具有保护意识的家庭中，强烈的庇护是没有必要的，因为外界的闯入对其影响很小。好的庇护需要管理者走出他们的办公室并且观察部门中正在进行什么。如果他们对团队日复一日的工作模式没有丝毫知觉，那么要察觉压力变大或冷漠将会十分困难。同样，员工如果感到管理者是一个有趣友好、平易近人的人，会更加愿意反映问题以引起她的注意。

好的庇护有五个重要的个人素质要求：

(1) 力量。管理者需要逆水游泳（也就是体制或者不合理的、专制的老板）

(2) 勇气。管理者为了她的员工冒险抵抗上级或体制。

(3) 毅力。庇护是一项永无止境的任务。

(4) 灵活性。在湍急的河流里避让（亦指系统）通常比建造一个水坝来得好。

(5) 机智。外交通常可使转向为体制所接受。

管理者向其员工提供有效的保护，不但在员工那里，而且在老板那里也会成功。

13. 培养创造力

管理者通过以下几点培养创造力：

(1) 对新点子表现出热情和兴奋；

(2) 轻触的管理，允许实验室科学家自由地以自己的方式和自己的步伐发展；

(3) 鼓励员工冒险并拓展新领域——如果失败了用鼓励而不是批评；

(4) 做一个既灵活又可靠的管理者，并创造一个有相同特点的工作环境；

(5) 要做出承诺，不仅对今天和今年的舒服和安宁，还要对公司及其员工的长期健康；

(6) 雇请有能力的、能创新的科学家。

鼓励创造力的技巧：

(1) “两个头脑总比一个强”不是陈词滥调。点子通常能通过相互讨论来充实。

(2) 各种学科团队参与的头脑风暴会议通常能产生适于销售的好点子。发表创造性意见的主要规则是在会议过程中不要评价表达出来的想法，因为批评的威胁会抑制思维的自由涌动。

(3) 管理者须避免评判员工的想法。最好让员工同他们的同事一起研究他们的观念（如研发、市场及销售）并让他们自己做评价。

(4) 当创新涉及到取代老技术时，管理者通常将新技术的开发委托给老技术专家。有时会取得成功，但大多是失败的，因为这些经验丰富的人对老技术有太多的智慧和情感投资。通常最好将新技术的开发分配给有能力的但没有相关经验的科学家，他们会以一个新鲜的、没有阻碍的方法处理问题。

(5) 建立正式的提意见系统是有益的，但管理必须防止固化，通过这种方式建议滋养了官僚政治系统，而不是周围的其他方式。

14. 激励

当要求数千名管理人员按次序列出他们对激励员工的看法时，他们都错了。他们列出：

(1) “有趣的工作”标为＃5，但员工填相同的问卷选择了＃1。

(2) “十分欣赏所做的工作”标为＃8，而员工评为＃2。

(3) “参与感”标为＃10，而员工定为＃3。

很明显，管理者需要学习更多的关于激励的东西。

专家认为，人类的行为不是随意的，而是有原因的内部激发，并通常直接指向某些目标。

严格地说，管理者不会也无法激发员工。他们能做的最好的只是为员工提供刺激，通过其自身的内部动力激励自己。

心理学家 Abraham Maslow[3]假设的需求层次区分了人类的激发性，以重要性从高到底排列：

(1) 生理上的需求（饿，渴）。

(2) 安全（可靠，稳定，可预见性）。

(3) 从属感和社会融合（友谊，成为团队的一部分）。

(4) 尊重（自重及来自别人的赏识/尊重）。

(5) 自我实现或自我实行（每个人都想向他或她自身能力的最好方向前进）。

基本的需要（生理上的）是最重要的，但一旦得到满足，他们不再受激励，并且下一个趋势变得可实施。因为大多数员工既饿不死，也不会被政治混乱所威胁，除非工作安全是管理者需关心的因素：

(1) 从属性和社会需求。

(2) 尊重。

(3) 自我实现。

15. 培养雇员成长

人类天生喜好成长和进步的感觉（心理学家 Willard Gaylin）。

为培养工人的成长，管理者需：

（1）理解人们，使他们的努力与人类自然的现实相协调。

（2）理解学习的过程，确证最佳的成长速度。

（3）用勤奋和耐心理解工作。

让我们检查这三个组成部分。

15.1 理解人们

人类的特性中与学习/成长过程最相关的是：

（1）渴望成长。每个人都有朝心理健康和成熟发展的内在趋势。

（2）个人的自由。越多的人讨论他们做什么、如何做、何时做以及个人成长的方向和步伐，他们将发展越快越稳当。

（3）独特性。人们各不相同。每个人都是独特的个体，就像指纹一样各不相同。每个个体都有不同的需求，并以不同的方式满足这些需求。

15.2 理解学习过程

研发管理者在学习过程中需要了解什么？

（1）学习是可以认知的，就如同记住乘法表或阅读书本；或者是经验的，就像骑着自行车或者在团队中有效地工作。大多数的学习是两者的结合，特别在技术机构中，这里认知的科学知识必须与广泛的多种经验技巧相结合。

（2）个人最好能实现经验上的成长。Carl Rogers[4] 指出的因素包括：

- 自发性。包括整个人身体上、智力上以及感情上的。一个人当他准备并想学习时他会学得最好。
- 普遍深入的。使学习者的态度和行为不同。
- 自我评价。学习者可以决定学习经验是否符合他的需要。
- 全面。这样，所有的（智力和感情的）意义都经历过。

15.3 应用

以下是一些总指南（记住之前提到的多产工作环境的特点）。领导者需：

- 轻触管理。
- 树立一个好榜样。
- 了解员工是一个个体。
- 尽可能让员工参与。
- 鼓励承担风险和思维创新。
- 不要低估雇员的潜力。
- 全方位考虑个人成长。

16. 招聘

当招聘到有能力的员工时，管理者差不多就能保证有好结果。然而，即使再聪明的领导聘用不适当的员工，也会陷入困境。所以，好的招聘是研发运行成功的基础。

行之有效的招聘首先取决于对现有人员的好的管理。动机、积极性以及团队成员的忠诚，对于来访者是显而易见的。

真实事件：在专制的管理下，一个部门连续有 18 个候选人遭拒绝。改变成以人为本的管理后，十分之九的候选人被接受。

招聘科研职员时有两个重要步骤：

（1）识别候选人的品质。

（2）让他们到机构中接受深入的面试（包括一个报告会）。

成功第一步的最好方式是去大学里面试学生。取得成功的第二步是尽可能让候选人与现有的员工交流，并鼓励面试者诚实地回答有关机构的问题。候选人越感到受欢迎和尊重，就越有机会接受这个职位。

招聘者需通过主要的顾问、其他科系的人员、以前的同班同学和正式的推荐人搜集关于候选人的信息。下列的个人特点尤为重要：能力、效率、诚实、发展潜力、适应性、思想开放、合作、服从、沟通、自信、动力、慎重、道德、独立以及能承担义务。

17. 进行正式的绩效评估

道德或诊断的评价通常是危险的（Carl Rogers）。

典型的正式绩效评估与看牙医很相似：之前的忧惧、痛苦的过程，之后当会议结束时，痛苦减轻。

Douglas McGregor[2] 解释了原因：

（1）评价员工的绩效很大程度上取决于管理者的心理结构。

（2）因为各种各样的原因（包括管理的渎职），评价通常与事实没有必然的联系。

真实事件：Roger，一位研发一线管理者，经常接到中上的绩效评估。他毫不犹豫，接受指令，做布置的文书工作，并且以混混噩噩的方式度过他在公司的 10 年，完全忽略了员工关心的事情和挫折。当一个新任的、能力很高的部门管理者来到时，她很快地意识到 Roger 的无能并逼迫他降级、调离岗位或者解雇。这引起了很大的骚动，因为“履历”描绘的是一幅完全不同的图画——十年不得罪人，不同管理者相对较好的绩效评价。

（1）专家在很大程度上同意，一个员工的表现与他如何被管理有关。

（2）涉及批评的交流的效果与员工听从它的意愿是成反比的。越刺耳的批评，人们就越难接受。

（3）管理者可能会传达负面的判断，但这会对关系产生严重的损坏。

（4）绩效评价强调员工对管理者的依赖。

Y

(5) 是否麻烦的人真的想听关于他的不足，这是一个未决的问题。

(6) 关于业余的顾问（指管理者），Carl Rogers[5]说他们能够完成的大部分事情只是暂时的改变，之后便消失，让人们甚至更坚信他的不足。

有一个得到验证的较好成功方式（假设所有的员工都表现很好；如果不是这个情形，那么管理者需要调离或解雇表现差的员工——见下文）。

(1) 在实际评价之前，要提醒员工“体制”要求一个正式的绩效评估，并要像过去一样，有特定的仪式。

(2) 管理者提醒她已经在这一年里同他们每个人之间有了紧密的接触，所以正式面谈时没有意外。

(3) 管理者确保每个人的绩效评估会是一个愉快的经历。

(4) 管理者在一个轻松、安心的氛围中进行正式的评价。

(5) 当员工初次走进她的办公室时，管理者重申最初的三点。

(6) 管理者强调——真诚地——员工工作做得很好以及她因为部门有他而感到开心。

(7) 管理者要进入特定的话题，她喜欢雇员的哪些方面以及他在过去一年中的表现；鼓励他添加管理者没有提到的成绩。

(8) 管理者提醒员工公司要求她记录一些负面的情况并且征求建议（如他经常直到最后一刻才完成他的工作）。

(9) 管理者会使他安心——真诚地——关于他的任何弱点，例如，“如果你是完美的，你会让其余的人看上去不好。”“你的意图通常是好的，你的优点远远超过你的缺点。”该话题的进一步讨论仅限于，管理者问雇员他们对于负面评价有什么感觉，最重要的是，管理者或者工作环境，对帮助他做到最好还有什么不足。

(10) 管理者记录——诚实地——雇员提及的缺点，但尽可能以积极的角度（如“雇员试图在最后一刻完成所布置的工作，但有超前意识通常能按时完成”）。

(11) 接着——这是十分重要的——管理者询问员工她能做些什么以帮助他提高。她坐回原位并以中立的态度倾听，谢谢员工——真诚地——得到率直的反馈（并跟踪建议）。

(12) 管理者总结时再强调——再一次真诚地——赏识他为团队成功所做的贡献以及很高兴他是部门的一员。

总之，应该在这里及在所有的管理行为中避免批评，仅仅因为这会影响生产率。受管理者认可和重视的员工会进行自我批评。从长远来看，这样做的效率更高。

18. 调离或开除无效率的员工

尽管管理实践很好，一个员工也可能不能合适地工作，管理者被迫将他调到公司里其他更合适他的岗位上。如果没有选择，法律允许以及理论上接受的话，员工会被停职。

以下是一个推荐的程序：

(1) 管理者需咨询人力资源部门的职员寻求正式的指导。事实上，在早期阶段，就同他们非正式地合作是明智的。

(2) 在确定他的行为与公司的政策相一致后，管理者需要让员工到他办公室进行一个私下的、公正的、不受干扰的、有同情心的交谈。

(3) 他应该说这样的开场白，“对不起，事情没有得到解决，你将面临停职。你不必明天就离开，但如果你从此继续在这里呆6个月将成为一个问题。从现在开始的6个月之内，你需要在另外的公司找工作。我会尽我所能帮你，但终究是你的责任。”

(4) 该员工肯定会恼火和敌对管理者。此时他要牢记员工正在经历一个极端受伤的过程，需要他的同情和支持。最后管理者需做的是试图为自己的决定做辩护，除非被雇员逼迫，这通常不会发生。

招聘和管理良好的管理者，将很少执行这个不愉快的任务。

19. 晋升

合适地选择新的管理者对机构的成功至关重要。

19.1 晋升错误的人

在选择研发管理人员时通常犯的错误有：

(1) 假设最好的实验室工作人员会成为最棒的管理者（管理与实验研究是完全不同的世界）。

(2) 选择专制的、只重结果的人，而不是以人为本的人。

(3) 在公司外而不是在内晋升，这样会降低雇员的士气和动力。

19.2 晋升正确的人

在晋升正确的人中重要的因素是有正确的人得到晋升，那么，招聘最好的候选人并创造成长的环境是至关重要的。识别出成为一个好的管理者所需的个人品质也同样重要（特别是人际关系导向）。管理者需避免晋升那些对管理没有才能或兴趣的人。避免这种情况发生的最好方式是给潜在的管理者提供暂时的职责并评价他们的表现。

20. 组织项目组

组织项目组的常见方式有两种：

(1) 非正式的（组里的成员属于以学科划分的部门，领导的角色是协调者，而不是老板）。

(2) 正式的（项目组长对组里的成员有组织的权威）。

在药物的研发中，最好有一个非正式的项目组，因为：

(1) 每个人出于感情上稳定和安全的原因，需要一个有组织的“家”，而正式的项目组会让科学家成为迁徙的工作者，例如，当一个项目结束时，他们通常会被分派到另一个项目组，有新的老板。

(2) 正式的项目组会妨碍团体间的协作，并在组与组之间产生不健康的竞争（我们对有限的共同资源应该有最

高优先权，并且想确保我们的项目会在上层管理的评级中排第一位）。

21. 国际的研发

国内的研发管理者在多国合作中面临一个特殊的挑战。通常，他们需要做以下几点：

（1）了解他们公司国际运作的组织特点。

（2）尽可能地了解不同国家文化、经济、技术以及政府的差异。

（3）与他们的国际研发同事建立紧密的关系。

一个能使用多国语言的研发管理人员是十分有价值的。

22. 研发管理和公司管理

研发管理需要：

（1）理解和重视公司管理的观点。

（2）扩展研发的视角，这与大范围的公司计划一致。

（3）在员工的帮助下，确定什么是公司的最高利益。

公司管理必须够多地了解研发世界，为了：

（1）理解研发的观点。

（2）理解研发的过程使资金稳定。

（3）在差的研发管理中认出危险信号（混乱、没有目标、一贯差的决定以及实验室工作人员不合适），与所有研发内在的坏运循环区分开来。

23. 产业与学术

产业与学术之间存在互利的关系。

23.1 学术的好处

（1）教育的好处：

- 鼓励思想的交流
- 在产业中为教员、大学生以及毕业生提供暂时的、以教育为主的工作
- 为增长知识开发联合项目

（2）经济及其他利益：

- 支持研究
- 在学生毕业后提供必要的就业机会
- 教员作为顾问
- 学术研究的快速商业化

23.2 产业的好处

（1）增加知识为了：

- 思想的交流
- 为更好的新产品提供更多的选择
- 使研发的花费更具灵活性（学术支持能够赞助紧急的而不是投机的方案，这些方案不需要做出长期的内部许诺）

（2）员工进一步的专业发展通过：

- 在学校中教学和演讲的机会
- 研究假期
- 由学术顾问做的内部短期课程

（3）新人员的成功招聘由于：

- 通过夏季雇用学生更彻底地评价潜在的工作候选人
- 改善公司在学生与教员中的形象

参考书目

Argyris, C. Personality and Organization: The Conflict between the System and the Individual; Harper & Row: New York, 1976.

Bennis, W.; Nanus, B. Leaders' Strategies for Taking Charge; Harper Collins: New York, 1997.

Drucker, P. F. The Practice of Management, 2nd Ed.; Harper Collins: New York, 1993.

Goleman, D. Emotional Intelligence: Why it can matter more than IQ; Bantam Books: New York, 1995.

Hall, J. The Competence Process: Managing for Commitment and Creativity; Teleometrics International: Woodlands, TX, 1980.

Leavitt, H. J.; Bahrami, H. Managerial Psychology: Managing Behavior in Organizations, 5th Ed. University of Chicago Press: Chicago, 1988.

Likert, R. New Patterns of Management; McGraw-Hill: New York, 1987.

Maslow, A. H. Eupsychian Management: A Journal; Irwin-Dorsey: Homewood, IL, 1965.

Maslow, A. H. Motivation and Personality, 2nd Ed.; Holtzman, W. G., Murphy, G., Eds.; Harper & Row: New York, 1970.

McGregor, D. The Human Side of Enterprise; McGregor, C., Bennis, W. G., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1985.

Rogers, C. R. Freedom to Learn for the 80s; Charles, E. Merrill, Ed.; Columbus, OH, 1983.

Rogers, C. R. Carl Rogers on Personal Power: Inner Strength and its Revolutionary Impact; Delacorte Press: New York, 1977.

Sampson, R. C. Managing the Managers; McGraw-Hill: New York, 1965.

Tingstad, J. E. Good Technical Management Practices: A Complete Menu; Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, 1999.

（杜敏琼　金玉琼　译）

Y

药物开发中的遗传因素

Werner Kalow

University of Toronoto, Toronto, Ontario, Canada

引言

我们回顾一下药物开发，发现遗传学正以我们不能忽略的方式发展着。传统遗传学只关心基因的结构变化。新技术使我们认识到基因的表达也能发生变化。

传统药物学不太涉及遗传学，除了遗传疾病。但是，遗传疾病总是比较稀少，因为导致疾病的基因改变从进化上说是不利的，因此根据达尔文的选择论，这种改变趋向于被消除。但是，现在人们意识到大多数或者所有的普通疾病都是归根于遗传因素。因此可以预测在药物学中对遗传的考虑会越来越多。

如今市场上的大多数药物在研发时都未考虑到遗传学，或者考虑得很少，虽然遗传因素能够影响个体对药物的反应，有人可能表现出缺乏反应，或有些情况下出现致命的过激反应。希望今后能消除或至少减少这些明显的差异，因为新的基因组技术能够丰富有关影响药物安全性和有效性的基因的知识。现在选择治疗疾病的药物不是根据发病原因，而是根据诊断和统计学。希望这种治疗能变成个性化的药物治疗，就是说根据患者的基因组成，为他选择合适的药物。许多基因能引起所有的普通疾病，但是只有一个或者很少基因是引发某个患者的疾病的主要原因。换而言之，我们希望针对引起或加重患者疾病的基因，选择能够影响这种特殊基因作用的治疗药物。通常的疾病，包括心血管、哮喘和精神分裂疾病等许多其他疾病，是由许多基因作用引起的。基因组技术的出现能够使单基因的药物遗传学进入多基因的药物基因组学。

为了实现这个愿望，还有许多工作需要完成。一项主要任务就是识别那些功能缺陷会参与或引起疾病的基因。一旦用基因组的方法识别这些相关的基因后，我们必须定义它们的功能。这需要了解由基因转录得到的蛋白质。确定了基因的正常功能，识别基因的错误功能就容易了，它对疾病的作用也清楚了。于是就有可能寻找能黏附在基因或蛋白质上的化合物了，从而消除或减轻基因功能的错误。最后，这种化合物能够转变成药物。

所有的这些过程都需要科学的观点。本章的目的就是为这方面的研究和一些必要的过程提供在科学背景上的总的看法。

背景资料

1. 基因功能的变异性

基因决定了外表、动作和个体的命运，不管是细菌、植物还是哺乳动物都是如此。我们的基因使每个人都不相同，这意味着基因在不同个体间不可能相似。事实上，大多数个体间差异和进化的差异是由基因的变异，就是基因突变决定的。

大多数突变是一个碱基替换另一个碱基，少数突变是由碱基对的缺失、编码移位和终止编码子的变异引起多肽链延长，或者类似变异作用的重组引起的。一个碱基替换另一个碱基现在用“单核苷酸多态性”表示，简称“SNP”[1,2]。基因组 DNA 中每 500～1000 对碱基对会发生替换，也就是说大多数基因具有一个或两个 SNP，虽然很多基因的功能并不重要[3]。

近年来发展的技术打开了遗传学全新的一面，那就是基因表达的研究[4~6]。就是给定基因的 DNA 能产生不同数目的衍生化的 RNA，它是生成蛋白质的核苷酸。因此，基因功能的改变可以与基因的结构无关。

基因表达是由转录控制的[7]，转录是从双螺旋的 DNA 解螺旋后，生成单链 RNA。这是由 RNA 聚合酶催化的，而这些酶是由很多复杂的因素控制的[8]。信使 RNA (mRNA)转录后处理包括切割除去内含子。从 RNA 通过翻译生成蛋白质也是一个复杂的过程[9]。翻译可以被反义寡核苷酸抑制[10,11]。因此，基因的表达是一个复杂的过程。激素、疾病和药物（尤为重要）都能影响它。

而且，基因表达能够用实验胚胎学来控制，在 DNA 甲基化过程中进行潜在可逆的变化[12,13]。它的正常功能是调节老化过程中的基因活动，修饰组织特异性的 DNA，以及使 X 染色体失活。实验胚胎学可以为癌症控制起作用[14]。简言之，只观察基因结构和突变已不能满足个性化治疗的探寻者的需要了。

2. 基因和药物的相互作用

药物遗传学是从发现不同的人对同一药物有不同的反应开始的，就像 Motulsky[15] 和 Vogel[16] 在论文中，以及 Kalow[17] 在书中总结的那样。在基因能被检测前，通过家庭成员或双胞胎对相同药物的不同反应，从表型上就表现为等位基因的变异。同时，人们很早就知道了在不同人群中有不同反应，开始只认为是人群差异。

所有这些关于先天差异的早期报告记录了药物反应的明显反常，这些反常的性状都是单基因的（孟德尔法则的）。当我们发现只有少数人对药物的反应很相似时，情况就不同了。通过引进“ED_{50}”这个概念，即 50% 的人达到指定药效所需要的药物剂量，从数学上规范化了这个发现[18]。ED_{50} 表明动物个体或人对任何药物的反应都是不同的，而且有时差异较大。这种差异性能用以 ED_{50} 为平均值

的正态（gaussian）分布图形表示。遗传因素也是造成反应差异大的因素，关于这点的第一个证据来自于对双胞胎的系统研究，研究表明遗传控制了对多种药物的代谢能力[19]。

药物反应的遗传学可以分为两类，这需要明确定义：第一，特定基因的某种遗传变异体会严重影响对某种药物或一系列药物的反应。第二，可能有多基因的影响或作用导致的药物反应的多因素变异，通常环境因素或多或少也起了作用。为了说明它们的影响，下面列举了这两种变异。

通过对 CYP2D6 的研究可以很好地说明第一种情况，它是一种主要存在于人类肝脏中的 P450 细胞色素药物代谢酶。这种蛋白质参与大约 60 种药物的代谢[20]。至今，在它的基因中已发现 74 个等位基因，大多数等位基因每个都有好几个（最多 8 个）突变点。CYP2D6 突变序列的差异值得注意：有几个突变抑制 CYP2D6 的生成，有些完全消除了它的生物活性，有些只降低了它的活性[21]，其他的改变了它针对特定药物底物的活性[22,23]，在某些个体中基因复制能显著提高其活性[24]。

7%的白种人、不到 1%的亚洲人和大多数非洲人缺失 CYP2D6 活性[25]，而在布须曼人中有 20%缺失其活性[26]。在 50%的中国人中发现的突变使 CYP2D6 活性平均值和欧洲人相比大大降低[27]。在 7 个准确测定的 CYP2D6 突变中，有几个在欧洲，其他的一些在中国和非洲，但只有一个（G4268C）在任何地方（欧洲、中国、日本和非洲）都有，表明这是种古老的突变，发生在人类迁移出非洲前[25]。因此，突变时间的不同可以说明药物代谢酶的大多数种族间的差异，因为没有药物时这些突变在生物学上与药物出现与否无关。

这些数据指出即使我们在传统药物遗传学中考查单个可变异基因，也是很复杂的。在一种人群中计算酶活性的缺失（“代谢差的表型”）相对简单，但是这样得到的数据，例如在欧洲的数据，可能对于其他地方就没用了。

药物响应的多因素控制不能用类似简单的术语表达清楚，但可以举几个例子。例如，观察有关异喹胍代谢的两组纯合个体，也就是有些纯合个体是野生型，具有 CYP2D6，有些没有这种酶。每组中异喹胍的保留时间个体间差异都很大。这只能是许多因素的存在和差异导致的，而不是 CYP2D6 基因型消除药物导致的[25]。只要反应曲线符合高斯分布就存在多因素控制。Vesell 引用了一些例子说明多种药物的代谢主要受遗传控制，即使代谢不是由可识别的单个基因控制的[28]。表 1 列出了只有一种可识别的催化剂情况下药物代谢控制的潜在复杂性。

表 1 可能降低药物代谢的因素

酶基因置换
突变使基因结构改变
通过实验胚胎学或不稳定的 RNA，降低基因表达（基因间相互作用，药物、激素或食物对基因的作用导致）
降低功能：失败的转录或翻译（生成蛋白质）
改变蛋白质的浓度或功能
酶被破坏或不稳定降低了浓度
药物、激素、食物和感染抑制了酶的功能
蛋白质折叠错误
减少药物和酶接触的机会
与药物结合过度（例如，在组织中或和白蛋白）
载体蛋白的遗传变异
问题：这些因素中哪个引起了典型的年龄相关的酶功能下降？

由于以前的和现行的方法学，药物代谢和其他形式的药物消除是研究得较为透彻的领域。但是药物作用的变化很大部分取决于药物靶位的遗传变异（如药物受体）[29]。Kim 和 Wilkinson 描述了药物载体的变化和效果[30]。

药物也能影响基因表达。一个很好的实例就是最近利福平使基因表达产生变化的测定。Rae 等[31]用微分析方法（microassay）测定药物对肝实质细胞中药物代谢酶的 mRNA表达的全部模板的作用。它对 CYP2E1 和 CYP2D6 没有作用。它能使 CYO2C8 的浓度提高 6.5 倍，使 CYP-AC9 的浓度提高 3.7 倍，但是对 CYP2C18mRNA 没有作用。CYP3A4 表现出 55.1 最高的诱导倍数。

现在已经认识到药物能通过增强或抑制许多基因的表达而影响它们的活性。事实上，我们常常不能确定一个药物的作用是否代表了它和蛋白质或基因间的相互作用。例如，尼古丁或其他药物的成瘾性似乎是因为这些药物改变了基因表达而产生的[32]。

有必要指出，非遗传性或环境因素也能产生很大作用。饥饿、营养不良和蛋白质缺乏都会导致药物代谢速率下降[33]，甚至食物相对缺乏时也会如此[34]。一些食物或药物能产生酶诱导[35]，另一些能产生酶抑制[36]。感染、其他疾病和能影响激素功能的许多因素可以改变药物响应。已经证明吸烟能诱导药物代谢酶。但是不同个体间和不同人群中吸烟的程度不同，一部分是因为尼古丁代谢细胞色素酶 CYP2A6 的遗传变异性[37]，这是一个表明遗传禀性能影响

环境作用强度的实例[38]。性别和年龄能影响许多药物响应，这两个因素是由基因和时间决定的。

尽管有这些复杂的因素，但药物作用或多或少由基因决定的事实很重要，虽然这是由单个或多个基因控制的。

3. 基因和疾病

“遗传病”指本质上由单个基因的错误引发的疾病。虽然它们属于孟德尔病症，但表型变化很多[39,40]。比如，囊肿性纤维化、神经纤维瘤、马方综合征和亨廷顿病。所有这些病发病率都很低，因为这种基因变异体从进化观点来看是不利的。由于这些病例很少，所以很少有为这些病寻找药物的广泛努力。这里面也有社会和经济因素的考虑。

所有常见的疾病是由多个基因和环境一起相互作用引起的[41]。比如，关节炎、动脉粥样硬化、哮喘、精神分裂和阿尔茨海默病。《常见疾病的遗传基础》一书中引用了很多病例[42]。Loring 等在阿尔茨海默病患者脑中发现 118 种不同的基因表达[43]。Gharavi 和 Lifton[44] 等描述了血压变化和高血压的遗传基础，至今证明人类有 7 个升高血压的基因突变和 9 个降低血压的基因突变。这些基因中很多是控制肾盐处理的。有些例子表明存在血管紧张素原变异或 β-肾上腺素或多巴胺受体系统变异。高血压病例中也有符合孟德尔规则（单基因控制）的，说明疾病不一定是多基因控制的。就像 Scriver 等在四卷本的书中说到[45]，很多疾病具有相似的并发症。

主要的困难在于现在医疗诊断几乎都是通过疾病的表证进行的，有时可能是一个单一的明显的症状，但是通常没有反应出疾病的本质。这个缺点可以通过确定常见疾病中变异的基因来克服。知道关键的基因就可以研究它们的功能，知道它们的功能就可以揭示基因的错误或它对疾病的作用。最后的问题是哪个基因引起哪个患者的疾病。

4. 疾病遗传学决定药物作用

大多数常见疾病有多种治疗方法，但是经常不起效，对于某个特定的患者可能只有这种或那种药有效。在一些病例中，影响疾病的遗传因素决定了某种药物对某个患者是有效还是无效。下面我们就举一些例子。

哮喘就是一个很好的例子来说明基因、疾病和药物相互作用的复杂性。首先哮喘没有广泛认可的定义。对双胞胎的研究表明：哮喘是概率达 0.72%～0.8%的遗传病[46]，但是遗传并不符合孟德尔模式，同时环境因素影响了临床表现[47]。因此，哮喘是多因素的。疾病的外在表现受多种主要和次要基因的相互作用影响，并且环境因素对其也有影响[48]。

Drazen 等[49]强调了哮喘患者中不同的治疗反应。现在哮喘治疗针对不同的靶位采用了不同的药物。糖皮质激素吸入剂（像倍氯米松）用作抗炎药，作用于糖皮质激素 α-受体[50]。β_2-肾上腺素受体拮抗剂（像沙丁胺醇）防止组胺诱导的支气管狭窄[51]。半胱氨酰-白三烯抑制剂，也就是 ACE 抑制剂（如福辛普利），抵抗过敏反应的慢反应物质[52]。在其他因素中，促进或保持哮喘的炎性过程好像是 CD_4 + T 细胞反常或未适当调节的免疫应答[53]。可变的血小板激活因子（PAF）乙酰水解酶和硬脂酸胆碱的氧化的衍生物在引发哮喘和其他疾病过程中起了很大作用[54]。对老鼠和人类的研究表明，调节一氧化氮的 NOS1 基因和过敏性哮喘有关[55]。

除了哮喘以外，肯定能找到其他的广泛存在的例子。但是，也有一些已经证实病例数目较少的例子。大家都知道，阿尔茨海默病患者如果是载脂蛋白 ApoE4 的变异体，用他克林治疗就无效。他克林是胆碱酯酶抑制剂，一种抗阿尔茨海默病的最早的药物[56]，用来提高乙酰胆碱递质的脑内浓度，这类递质浓度低是因为胆碱乙酰化酶抑制其生成[57]。ApoE4 的遗传变异体对于阿尔茨海默病的作用是后来单独观察到的[58]，表明他克林对 ApoE4 变异的患者疗效很差[59]。

另一个例子就是精神分裂症中精神抑制药效果的遗传变异性。Cichon 等[60]指出这种多变的响应性是由于几种 P450 细胞色素的遗传变异，加上多巴胺和 5-羟色胺受体的变异造成的。这些受体的变异似乎引起了精神分裂疾病，因此这是遗传、疾病和药物反应相互作用的另一个例子[61～63]。

所有这些观察资料为发展个性化治疗，也就是针对致病基因进行治疗的研究增强了信心 。

任务

1. 寻找值得关注的基因

首先要寻找引发相应常见疾病的突变。相关研究可以提供疾病和基因变异体的关系[64]。人类基因组数百万的 DNA 序列变异体中，大多数具有 SNP。测定以 SNP 为基础的遗传谱能作为个人的指纹图谱，表明各种疾病发生的相关遗传作用。这就是建立 SNP 大规模分析技术的巨大努力后的推动力。

最近发表了很多有关基因搜寻的技术。例如，Kwok[65] 总结了一些最近使用的基因分型方法。所有有效的设计都要求有大量的带有许多标记的个体的基因分型。因此，必须从整个基因组寻找到相关的基因。有很多基因分型方法[66]和迷你测序方法[67]。Medlin[68] 采用喷墨技术把 DNA 核苷酸点到载玻片上。Qi 等[69]描述了一种灵活的、不用凝胶作介质的检测方法，他用热稳定的片段作为等位片段，环扩增（RCA）使信号增强。Tsongalis 等[70]描述了一个用 DNA 聚合酶介导的焦磷酸化系统和一种荧光素酶检测反应。Patil 等[71]开始鉴别人类 21 号染色体中所有的 SNP，并把它们分组放入单模标本中。他们建立了人类-啮齿动物杂交细胞株，每一个细胞株含有一份不同个体的 21 号染色体拷贝。运用高密度寡核苷酸阵列，他们得到了染色体完整的 DNA 序列。还会有更多的方法出现。但是，寻找复杂特性下的基因是很困难的，也经常让人很失望[72]。

主要原因就是有些基因，单个作用都很小，但相互作用就会产生复杂性。

和寻找基因结构的变异体一样重要的，可能就是研究基因表达。基因表达可以在特定组织分化的不同细胞间比较，或者在同一组织不同时间段比较。如果第一个组织样本有病而第二个没有，如果有些基因在不同样本间表达不同，我们就能知道哪些基因被疾病改变了，或者哪些基因是发病的原因。通过同样的方法，我们能够知道哪些基因被药物或毒素影响了，或者哪些基因随衰老而改变，或者哪些基因在一个组织中表达而在另一个组织中不表达。我们可以了解要对付的这些基因，并能开始了解基因的生物学功能。这可能意味着鉴别和确认了药物发展的新的分子靶位，在临床前和毒理学研究中预测了药物可能的副反应[73,74]。

研究基因表达需要微阵列技术。最近，高通量技术已用于基因表达的生化分析[75~78]。基因表达连续分析也已经广泛应用[6]。Burgess[79]在显微镜载玻片上点了一些探针，用不同的荧光染料标记从细胞中分离出的 RNA，然后再将其与微阵列杂交。整个基因图谱的表达代替了传统的单个基因表达[80]。

从概念上讲，不同的技术开发方法方法导致了两代不同的阵列形式：寡核苷酸阵列和 cDNA 阵列[81]。寡核苷酸探针代表了 DNA 片段中错配的碱基。Lee 等[82]强调了研究复制确保数据可信的重要性，而 Herwig 等[83]对表达的数据进行了数据分析。Brazma 等[84]为表达和交流这些数据提出了一种标准，形式为“微阵列实验的最低限度信息”(MIAME)。Haverty 等[85]创建了“人类基因表达索引”(www. Hugelndex. com)，作为正常人体组织基因表达的公共档案库。简言之，基因表达的研究代表了一个重要的新的科学关注点。

2. 基因功能

从生物学的角度看，只有当一个重要基因的功能确定后，鉴别这个基因才真的很重要，这一点是广泛认可的。在 Internet 的 Pubmed 检索中输入“基因功能”，能检索到 60 000 多条记录。

由于人类和鼠类基因组有 80%相同，许多单个基因是完全相同的，所以都用老鼠做研究[43]。用老鼠有一个好处，一个基因可以通过体内或体外敲除来验证，也就是用实验除去基因。Yoshihara 等[87]发现了很多苍蝇基因和人类神经疾病基因相同，他们建议将果蝇作为人类神经病理学的重要疾病模型。

对于运用多基因座关联分析，确定含有影响复杂遗传特征的变异序列的基因组区域还有很大的争议[87]。现在有新的方法测定单模标本和多个样本间的数据联系[88]。通过不同的基因组计划，鉴定成千上万个基因是一项挑战[89]。

研究基因功能的一个关键就是鉴定问题基因生成的蛋白质，测定蛋白质功能是生物学的一个传统方面。鉴定蛋白质，对它们进行系统的、大规模的分析，这就是“蛋白质组学”。蛋白质图谱可能和疾病的特定影响以及功能的改变有关[90~92]。最近新出的刊物“蛋白组学”很好地说明了这个方面的重要性。

采用不同途径得到的不同类型的大量资料在生物学上的应用可以通过“生物信息学”这种复杂的学科来辅助完成，如使用计算机储存或分析生物学信息，也有同名的刊物。最近的目录列出了以计算机为基础的资源，这些资源提供了通向生物信息学资料的入口[93]，还有关键词和相关条目的列表[94]。

3. 药物设计

一旦功能基因组学揭示了所有相关的信息，如相关的基因，它的生物学功能，相关的蛋白质，我们就能开始想象药物的化学结构必须能影响基因功能[26]。有不同的虚拟筛选方法寻找先导结构[95]。

一个很好的例子就是使用以结构为基础的设计方法，找到了乙酰胆碱酯酶新的抑制剂[96]。这篇文章的作者用脱辅基酶蛋白的 X 射线结构对他克林的嵌合体进行分子模型研究，他们测定了几个较好的附着位点和它们的性质。他们合成了几种相应的化合物，测定了它们的抑制活性，发现它们的浓度只有纳摩级。

如果已知给定蛋白质的三维结构，可以直接用来修改或设计新的配体。可以用核磁共振谱和 X 射线晶体学帮助分子建模[97]。有关靶蛋白的晶体结构或者得到的模型的知识是很有用的，这些信息可以用于激发我们改进已有的配体，或者发展新的可替代的连接骨架。蛋白质结合袋的性质能够翻译成用于大化合物库计算机虚拟筛选的查询条件，或者重新设计新的配体[98]。Williams 等[99]描述了一个先导物优化程序。Zeng 对特定靶向蛋白表面的抑制剂的设计方法学和算法的目前情况做了综述[100]。

文献 [101] 总结了对于先导物和药物开发要求的看法。化学性质应当优化，有利于患者的状况、吸收和其他分布性质要好。一组可测定的项目能帮助评价这些决定因素。

结论

在所有科学发达的国家中，人们花了巨大的努力促进个性化治疗的发展。这种新的治疗方法会放弃传统的选择治疗药物的方法，即基于人群平均和表观疾病诊断的方法。遗传诊断学将成为临床决定的支点。实现这些改变还需要完成无数的工作。然而，目前的科学知识告诉我们这个目标很有意义，为此付出的努力是值得的。医学界和公众对这些充满希望的改变有些看法，这需要在公开讨论中提出。

参 考 文 献

1. Shi, M. M. Enabling Large-Scale Pharmacogenetic Studies by High-Throughput Mutation Detection and Genotyping Technologies. Clin. Chem. 2001, 47, 164—172.

Y

2. Grant, D. M.; Phillips, M. S. Technologies for the Analysis of Single-Nucleotide Polymorphisms: An Overview. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 183—190.
3. Chasman, D.; Adams, R. M. Predicting the Functional Consequences of Non-synonymous Single Nucleotide Polymorphisms: Structure-Based Assessment of Amino Acid Variation. J. Mol. Biol. 2001, 23, 683—706.
4. Kaufman, R. J. Overview of Vector Design for Mammalian Gene Expression. Mol. Biotechnol. 2000, 16, 151—160.
5. King, H. C.; Sinha, A. A. Gene Expression Profile Analysis by DNA Microarrays: Promise and Pitfalls. J. Am. Med. Assoc. 2001, 14, 2280—2288.
6. Madden, S. L.; Wang, C.; Landes, G. Serial Analysis of Gene Expression: Transcriptional Insights into Functional Biology. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 223—252.
7. Rudner, D. Z.; Losick, R. Morphological Coupling in Development: Lessons from Prokaryotes. Dev. Cell 2001, 1, 733—742.
8. Oelgeschlager, T. Regulation of RNA Polymerase II Activity by CTD Phosphorylation and Cell Cycle Control. J. Cell Physiol. 2002, 190, 160—169.
9. Moore, M. J.; Rosbash, M. Cell Biology. Tapping into mRNA Export. Science 2001, 30, 1841—1842.
10. Myers, K. J.; Dean, N. M. Sensible Use of Antisense: How to Use Oligonucleotides as Research Tools. Trends Pharmacol. Sci. 2000, 21, 19—23.
11. Cooper, S. R.; Taylor, J. K.; Miraglia, L. J.; Dean, N. M. Pharmacology of Antisense Oligonucleotide Inhibitors of Protein Expression. Pharmacol. Ther. 1999, 82, 427—435.
12. Wolffe, A. P.; Matzke, M. A. Epigenetics: Regulation Through Repression. Science 1999, 15, 481—486.
13. Nakao, M. Epigenetics: Interaction of DNA Methylation and Chromatin. Gene 2001, 31, 25—31.
14. Muyrers-Chen, I.; Paro, R. Epigenetics: Unforeseen Regulators in Cancer. Biochim. Biophys. Acta 2001, 30, 15—26.
15. Motulsky, A. G. Pharmacogenetics and Ecogenetics in 1991. Pharmacogenetics 1991, 1, 2—3.
16. Vogel, F. Moderne Probleme der Humangenetik. Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde 1959, 12, 65—126.
17. Kalow, W. Pharmacogenetics. Heredity and the Response to Drugs, W. B. Saunders Company: Philadelphia, 1962.
18. Trevan, J. W. The Error of Determination of Toxicity. R. Soc. Lond., Proc. 1 Ser. B 1927, 101, 483—514.
19. Vesell, E. S.; Page, J. G. Genetic Control of Drug Levels in Man: Antipyrine. Science 1968, 161, 72—73.
20. Kalow, W.; Grant, D. M. Pharmacogenetics. In The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Childs, B., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., Eds.; McGraw-Hill: New York, 2001; 225—255.
21. Fukuda, T.; Nishida, Y.; Imaoka, S.; Hiroi, T.; Naohara, M.; Funae, Y.; Azuma, J. The Decreased In Vivo Clearance of CYP2D6 Substrates by CYP2D6 * 10 Might Be Caused Not Only by the Low-Expression but Also by Low Affinity of CYP2D6. Arch. Biochem. Biophys. 2000, 15, 303—308.
22. Woolhouse, N. M.; Eichelbaum, M.; Oates, N. S.; Idle, J. R.; Smith, R. L. Dissociation of Co-regulatory Control of Debrisoquine/Phenformin and Sparteine Oxidation in Ghanaians. Clin. Pharmacol. Ther. 1985, 37, 512—521.
23. Masimirembwa, C.; Hasler, J.; Bertilssons, L.; Johansson, I.; Ekberg, O.; Ingelman-Sundberg, M. Phenotype and Genotype Analysis of Debrisoquine Hydroxylase (CYP2D6) in a Black Zimbabwean Population. Reduced Enzyme Activity and Evaluation of Metabolic Correlation of CYP2D6 Probe Drugs. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1996, 51, 117—122.
24. Johansson, I.; Lundqvist, E.; Bertilsson, L.; Dahl, M. L.; Sjoqvist, F.; Ingelman-Sundberg, M. Inherited Amplification of an Active Gene in the Cytochrome P450 CYP2D Locus as a Cause of Ultrarapid Metabolism of Debrisoquine. Proc. Natl Acad. Sci. 1993, 90, 11825—11829.
25. Kalow, W. Interethnic Differences in Drug Response. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 109—134.
26. Winkler, F. K.; Banner, D. W.; Bohm, H. J. Structure-Based Approaches in Modern Drug Discovery Research. Ernst Schering Res. Found. Workshop 2001, 34, 123—142.
27. Johansson, I.; Oscarsson, M.; Yue, Q-Y.; Bertilsson, L.; Sjoqvist, F.; Ingelman-Sundberg, M. Genetic Analysis of the Chinese CYP2D Locus. Characterization of Variant CYP2D6 Genes Present in Subjects with Diminished Capacity for Debrisoquine Hydroxylation. Mol. Pharmacol. 1994, 46, 452—459.
28. Vesell, E. S. Polygenic Factors Controlling Drug Response. Med. Clin. North Am. 1974, 58, 951—963.
29. Weber, W. W. Pharmacogenetics—Receptors. In Pharma-

cogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 51—80.
30. Kim, R. B.; Wilkinson, G. R. Pharmacogenetics of Drug Transporters. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 81—108.
31. Rae, J. M.; Johnson, M. D.; Lippman, M. E.; Flockhart, D. A. Rifampin is a Selective, Pleiotropic Inducer of Drug Metabolism Genes in Human Hepatocytes: Studies with cDNA and Oligonucleotide Expression Arrays. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 299, 849—857.
32. Noble, E. P. Addiction and Its Reward Process Through Polymorphisms of the D2 Dopamine Receptor Gene: A Review. Eur. Psychiatry 2000, 15, 79—89.
33. Anderson, K. E. Influences of Diet and Nutrition on Clinical Pharmacokinetics. Clin. Pharmacokinet. 1988, 14, 325—346.
34. Herken, H. Untersuchungen an Serumproteinen bei Eiweißmamgelernährung. Ärztl. Wochenschr. 1949, 4, 297—302.
35. Okey, A. B. Enzyme Induction in the Cytochrome P-450 System. In Pharmacogenetics of Drug Metabolism. Int. Encycl. Pharmacol. Therap. Sect. 137, Kalow, W., Ed.; Pergamon Press: New York, 1992; 549—608.
36. Fuhr, U.; Klittich, K.; Staib, A. H. Inhibitory Effect of Grapefruit Juice and Its Bitter Principal, Naringenin, on CYP1A2 Dependent Metabolism of Caffeine in Man. Br. J. Clin. Pharmacol. 1993, 35, 431—436.
37. Messina, E. S.; Tyndale, R. F.; Sellers, E. M. A Major Role for CYP2A6 in Nicotine C-Oxidation by Human Liver Microsomes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1997, 282, 1608—1614.
38. Sellers, E. M. Pharmacogenetics and Ethnoracial Differences in Smoking. J. Am. Med. Assoc. 1998, 8, 179—180.
39. Dipple, K. M.; McCabe, E. R. Phenotypes of Patients with "Simple" Mendelian Disorders Are Complex Traits: Thresholds, Modifiers, and Systems Dynamics. Am. J. Hum. Genet. 2000, 66, 1729—1735.
40. Beutler, E. Discrepancies Between Genotype and Phenotype in Hematology: An Important Frontier. Blood 2001, 1, 2597—2602.
41. Thomson, G. Mapping of Disease Loci. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 337—362.
42. King, R. A.; Rotter, J. I.; Motulsky, A. G. (Eds.). The Genetic Basis of Common Diseases, 2nd edition. Oxford University Press, New York, 2002.
43. Loring, J. F.; Wen, X.; Lee, J. M.; Seihamer, J.; Somogyi, R. A Gene Expression Profile of Alzheimer's Disease. DNA Cell Biol. 2002, 20, 683—695.
44. Gharavi, A.; Lifton, R. The Inherited Basis of Blood Pressure Variation and Hypertension. In The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Eds.; McGraw-Hill: New York, 2001; 5399—5417.
45. Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D., Eds.; The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease; McGraw-Hill: New York, 2001.
46. Lindpaintner, K. Genetics in Drug Discovery and Development: Challenge and Promise of Individualizing Treatment in Common Complex Diseases. Br. Med. Bull. 1999, 55, 471—491.
47. Rojas-Martinez, A.; Santillan, A. A.; Delgado-Enciso, I.; Barrera-Saldana, H. A. Genetic Aspects of Asthma. Rev. Invest. Clin. 2000, 52, 441—450.
48. Barnes, K. C. Gene-Environment and Gene-Gene Interaction Studies in the Molecular Genetic Analysis of Asthma and Atopy. Clin. Exp. Allergy 1999, 4, 47—51.
49. Drazen, J. M.; Silverman, E. K.; Lee, T. H. Heterogeneity of Therapeutic Responses in Asthma. Br. Med. Bull. 2000, 56, 1054—1070.
50. Adcock, I. M. Glucocorticoid-Regulated Transcription Factors. Pulm. Pharmacol. Ther. 2001, 14, 211—219.
51. Bijl-Hofland, I. D.; Cloosterman, S. G.; Folgering, H. T.; van Den Elshout, F. J.; van Weel, C.; van Schayck, C. P. Inhaled Corticosteroids, Combined with Long-Acting beta (2) -Agonists, Improve the Perception of Bronchoconstriction in Asthma. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001, 1, 764—769.
52. Leff, A. R. Regulation of Leukotrienes in the Management of Asthma: Biology and Clinical Therapy. Annu. Rev. Med. 2001, 52, 1—14.
53. Miller, A. L. The Etiologies, Pathophysiology, and Alternative/Complementary Treatment of Asthma. Altern. Med. Rev. 2001, 6, 20—47.
54. Stafforini, D. M. PAF Acetylhydrolase Gene Polymorphisms and Asthma Severity. Pharmacogenetics 2001, 2, 163—175.
55. Grasemann, H. Genetics of the Neuronal NO Synthase (NOS1) in the Etiology of Bronchial Asthma. Pneumologie 2001, 55, 390—395.
56. Summers, W. K.; Majovski, L. V.; Marsh, G. M.; Tachiki, K.; Kling, A. Oral Tetrahydroaminoacridine in Long-Term Treatment of Senile Dementia, Alzheimer Type. N. Engl. J. Med. 1986, 13, 1241—1245.
57. White, P.; Hiley, C. R.; Goodhardt, M. J.; Carrasco,

Y

L. H.; Keet, J. P.; Williams, I. E.; Bowen, D. M. Neocortical Cholinergic Neurons in Elderly People. Lancet 1977, 26, 668—671.

58. Poirier, J.; Davignon, J.; Bouthillier, D.; Kogan, S.; Bertrand, P.; Gauthier, S. Apolipoprotein E Polymorphism and Alzheimer's Disease. Lancet 1993, 18, 697—699.
59. Poirier, J.; Delisle, M. C.; Quirion, R.; Aubert, I.; Farlow, M.; Lahiri, D.; Hui, S.; Bertrand, P.; Nalbantoglu, J.; Gilfix, B. M. Apolipoprotein E4 Allele as a Predictor of Cholinergic Deficits and Treatment Outcome in Alzheimer Disease. Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A. 1995, 19, 12260—12264.
60. Cichon, S.; Nothen, M. M.; Rietschel, M.; Propping, P. Pharmacogenetics of Schizophrenia. Am. J. Med. Genet. 2000, 97, 98—106.
61. Scharfetter, J. Dopamine Receptor Polymorphisms and Drug Response in Schizophrenia. Pharmacogenomics 2001, 2, 251—261.
62. Bantick, R. A.; Deakin, J. F.; Grasby, P. M. The 5-HT1A Receptor in Schizophrenia: A Promising Target for Novel Atypical Neuroleptics? J. Psychopharmacol. 2001, 15, 37—46.
63. Schafer, M.; Rujescu, D.; Giegling, I.; Guntermann, A.; Erfurth, A.; Bondy, B.; Moller, H. J. Association of Short-Term Response to Haloperidol Treatment with a Polymorphism in the Dopamine D (2) Receptor Gene. Am. J. Psychiatry 2001, 158, 802—804.
64. Devlin, B.; Roeder, K.; Bacanu, S. A. Unbiased Methods for Population-Based Association Studies. Genet. Epidemiol. 2001, 21, 273—284.
65. Kwok, P. Y. Methods for Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms. Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2001, 2, 235—258.
66. Ross, P. L.; Hall, L.; Haff, L.; Garvin, A. Multiplex Genotyping by Specialized Mass Spectrometry. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 201—222.
67. Sitbon, G.; Syvanen, A.-C. Multiplex Fluorescent Minisequencing Applied to the Typing of Genes Encoding Drug-Metabolizing Enzymes. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 191—200.
68. Medlin, J. Array of Hope for Gene Technology. Environ. Health Perspect. 2001, 109, A34—A37.
69. Qi, X.; Bakht, S.; Devos, K. M.; Gale, M. D.; Osbourn, A. L-RCA (Ligation-Rolling Circle Amplification): A General Method for Genotyping of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). Nucleic Acids Res. 2001, 15, 29.
70. Tsongalis, G. J.; Rainey, B. J.; Hodges, K. A. READIT: A Novel Technology Used in the Interrogation of Nucleic Acid Sequences for Single-Nucleotide Polymorphisms. Exp. Mol. Pathol. 2001, 71, 222—225.
71. Patil, N.; Berno, A. J.; Hinds, D. A.; Barrett, W. A.; Doshi, J. M.; Hacker, C. R.; Kautzer, C. R.; Lee, D. H.; Marjoribanks, C.; McDonough, D. P.; Nguyen, B. T.; Norris, M. C.; Sheehan, J. B.; Shen, N.; Stern, D.; Stokowski, R. P.; Thomas, D. J.; Trulson, M. O.; Vyas, K. R.; Frazer, K. A.; Fodor, S. P.; Cox, D. R. Blocks of Limited Haplotype Diversity Revealed by High-Resolution Scanning of Human Chromosome 21. Science 2001, 23, 1719—1723.
72. Hoh, J.; Wille, A.; Ott, J. Trimming, Weighting, and Grouping SNPs in Human Case-Control Association Studies. Genome Res. 2001, 11, 2115—2119.
73. Clarke, P. A.; te Poele, R.; Wooster, R.; Workman, P. Gene Expression Microarray Analysis in Cancer Biology, Pharmacology, and Drug Development: Progress and Potential (2). Biochem. Pharmacol. 2001, 15, 1311—1336.
74. Herzig, U.; Cadenas, C.; Sieckmann, F.; Sierralta, W.; Thaller, C.; Visel, A.; Eichele, G. Development of High-Throughput Tools to Unravel the Complexity of Gene Expression Patterns in the Mammalian Brain. Novartis Found. Symp. 2001, 239, 129—146.
75. Heck, D. E.; Roy, A.; Laskin, J. D. Nucleic Acid Microarray Technology for Toxicology: Promise and Practicalities. Adv. Exp. Med. Biol. 2001, 500, 709—714.
76. Raetz, E. A.; Moos, P. J.; Szabo, A.; Carroll, W. L. Gene Expression Profiling. Methods and Clinical Applications in Oncology. Hematol. Oncol. Clin. North Am. 2001, 15, 911—930.
77. Bubendorf, L. High-Throughput Microarray Technologies: From Genomics to Clinics. Eur. Urol. 2001, 40, 231—238.
78. Nakanishi, T.; Oka, T.; Akagi, T. Recent Advances in DNA Microarrays. Acta Med. Okayama 2001, 55, 319—328.
79. Burgess, J. K. Gene Expression Studies Using Micro-arrays. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2001, 28, 321—328.
80. Joussen, A. M.; Huang, S. Possibilities of Broad Spectrum Analysis of Gene Expression Patterns with cDNA Arrays. Ophthalmologe 2001, 98, 568—573.
81. Harkin, D. P. Uncovering Functionally Relevant Signaling Pathways Using Microarray-Based Expression Profiling. Oncologist 2000, 5, 501—507.

82. Lee, M. L.; Kuo, F. C.; Whitmore, G. A.; Sklar, J. Importance of Replication in Microarray Gene Expression Studies: Statistical Methods and Evidence from Repetitive cDNA Hybridizations. Proc. Natl Acad. Sci. 2000, 29, 9834—9839.
83. Herwig, R.; Aanstad, P.; Clark, M.; Lehrach, H. Statistical Evaluation of Differential Expression on cDNA Nylon Arrays with Replicated Experiments. Nucleic Acids Res. 2001, 1, 29.
84. Brazma, A.; Hingamp, P.; Quackenbush, J.; Sherlock, G.; Spellman, P.; Stoeckert, C.; Aach, J.; Ansorge, W.; Ball, C. A.; Causton, H. C.; Gaasterland, T.; Glenisson, P.; Holstege, F. C.; Kim, I. F.; Markowitz, V.; Matese, J. C.; Parkinson, H.; Robinson, A.; Sarkans, U.; Schulze-Kremer, S.; Stewart, J.; Taylor, R.; Vilo, J.; Vingron, M. Minimum Information About a Microarray Experiment (MIAME)—Toward Standards for Microarray Data. Nat. Genet. 2001, 29, 365—371.
85. Haverty, P. M.; Weng, Z.; Best, N. L.; Auerbach, K. R.; Hsiao, L. L.; Jensen, R. V.; Gullans, S. R. HUGEINDEX: A Database with Visualization Tools for High-Density Oligonucleotide Array Data from Normal Human Tissues. Nucleic Acids Res. 2002, 1, 214—217.
86. Anonymous. Mouse Models of Human Diseases: What Can We Learn? Trends Genet. 2001, 17, S1.
87. Yoshihara, M.; Ensminger, A. W.; Littleton, J. T. Neurobiology and the Drosophila Genome. Funct. Integr. Genomics 2001, 1, 235—240.
88. Schaid, D. J.; Rowland, C. M.; Tines, D. E.; Jacobson, R. M.; Poland, G. A. Score Tests for Association Between Traits and Haplotypes When Linkage Phase Is Ambiguous. Am. J. Hum. Genet. 2002, 70, 425—434.
89. Borrebaeck, C. A. Tapping the Potential of Molecular Libraries in Functional Genomics. Immunol. Today 1998, 19, 524—527.
90. Witzmann, F. A. Proteomics. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 253.
91. Bals, R.; Jany, B. Identification of Disease Genes by Expression Profiling. Eur. Respir. J. 2001, 18, 882—889.
92. Husi, H.; Grant, S. G. Proteomics of the Nervous System. Trends Neurosci. 2001, 24, 259—266.
93. Tang, S.; Helmeste, D. Bioinformatics WWW Resources. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; MarcelDekker, Inc.: New York, 2001; 291—310.
94. Hyndman, D. L.; Mitsuhashi, M. Applied Bioinformatics. In Pharmacogenomics, Kalow, W., Meyer, U. A., Tyndale, R. F., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 311—336.
95. Langer, T.; Hoffmann, R. D. Virtual Screening: An Effective Tool for Lead Structure Discovery? Curr. Pharm. Des. 2001, 7, 509—527.
96. Doucet-Personeni, C.; Bentley, P. D.; Fletcher, R. J.; Kinkaid, A.; Kryger, G.; Pirard, B.; Taylor, A.; Taylor, J.; Viner, R.; Silman, I.; Sussman, J. L.; Greenblatt, H. M.; Lewis, T. A Structure-Based Design Approach to the Development of Novel, Reversible AChE Inhibitors. J. Med. Chem. 2001, 27, 3203—3215.
97. Forster, M. J. Molecular Modelling in Structural Biology. Micron 2002, 33, 365—384.
98. Gane, P. J.; Dean, P. M. Recent Advances in Structure-Based Rational Drug Design. Curr. Opin. Struct. Biol. 2000, 10, 401—404.
99. Williams, G. A.; Dugan, J. M.; Altman, R. B. Constrained Global Optimization for Estimating Molecular Structure from Atomic Distances. J. Comput. Biol. 2001, 8, 523—547.
100. Zeng, J. Mini-Review: Computational Structure-Based Design of Inhibitors That Target Protein Surfaces. Comb. Chem. High Throughput Screen. 2000, 3, 355—362.
101. Oprea, T. I.; Davis, A. M.; Teague, S. J.; Leeson, P. D. Is There a Difference Between Leads and Drugs? A Historical Perspective. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 2001, 41, 1308—1315.

（何 蔚 译）

Y

药物开发中先导物优化的分子和细胞途径

C. K. Atterwill
M. G. Wing
Huntingdon Life Science, Cambridgeshire, United Kingdom

引言

为了临床前开发和注册，明智的先导候选物的选择应该减小药物淘汰的高比例，以及减少失败的药物候选物在研发过程中继续进行下去增加的成本。据估计，在药物开发中，因动物和人使用后的不良毒理动力学和安全性因素而中止开发的占了大约 60%（图 1）。在这 60%中，不希望有的动物和人毒性事件的总和占了所有相关因素的 21%。淘汰率很高，特别是在早期的常规毒理学和临床试验阶段（图 2）。由于从初步的高通量筛选中鉴别到大量的命中物，因而，从伦理和商业的角度看，先导候选物的优化已经成为一个极重要的决策里程碑。图 3 显示了加入临床前先导候选物优化阶段的“模型”或策略。本质上，在先导候选物开发中 1 个月毒理学试验后，在最终选择决定之前，“老的”或在许多情况下现行的策略是拿几个先导候选物在体内进行早期的小规模临床药理学/毒理动力学/安全性研究。化合物出现的任何问题可以在较早阶段推进先导物“筛选”的设计以用于后续化合物的筛选。在初步的揭示体内 ADME-Tox 之前，一个更现代化和合乎要求的方法是在所有阶段插入一个强制性的体外 ADME-Tox“筛选”（现在已用于很多例子中），从而得到一个“干净的”先导开发候选物（LDC）进行所有的法规要求的试验（图 4）。简而言之，需要进行早期迅速和可靠的筛选分析，对一系列先导化合物按合乎要求和不合乎要求的特性进行排序。

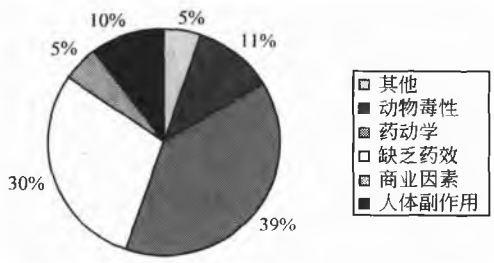
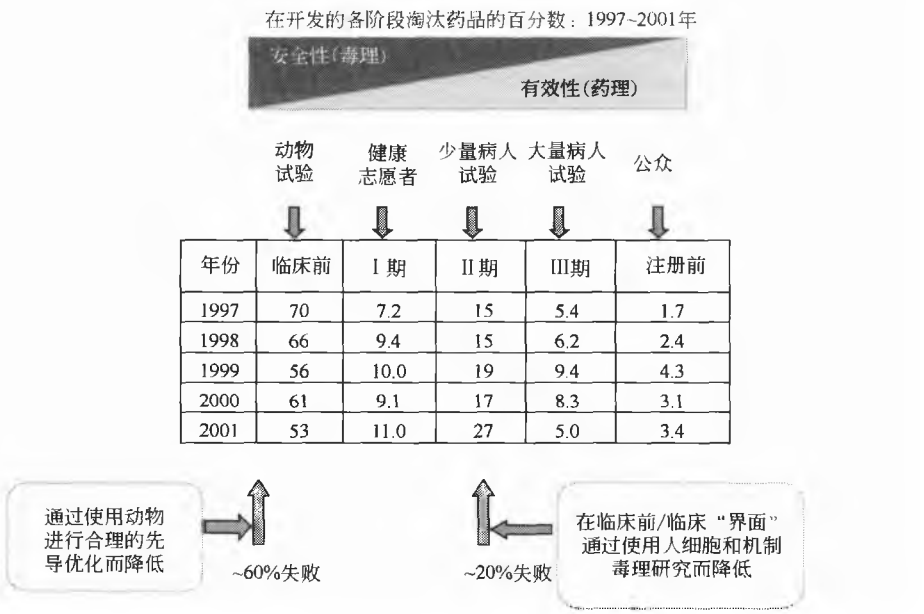


图 1 新化学实体（NCE）研究中断的原因。数据来源于英国几家主要制药公司（1964～1985 年）新化合物进入临床试验的资料



年份	临床前	I 期	II 期	III期	注册前
1997	70	7.2	15	5.4	1.7
1998	66	9.4	15	6.2	2.4
1999	56	10.0	19	9.4	4.3
2000	61	9.1	17	8.3	3.1
2001	53	11.0	27	5.0	3.4

图 2 列表说明在药物开发的临床前和临床试验阶段新化合物没有通过毒理学或安全性试验的原因。数据为 1997～2001 年的情况，也表明在药物开发中安全性和有效性试验的贡献比例

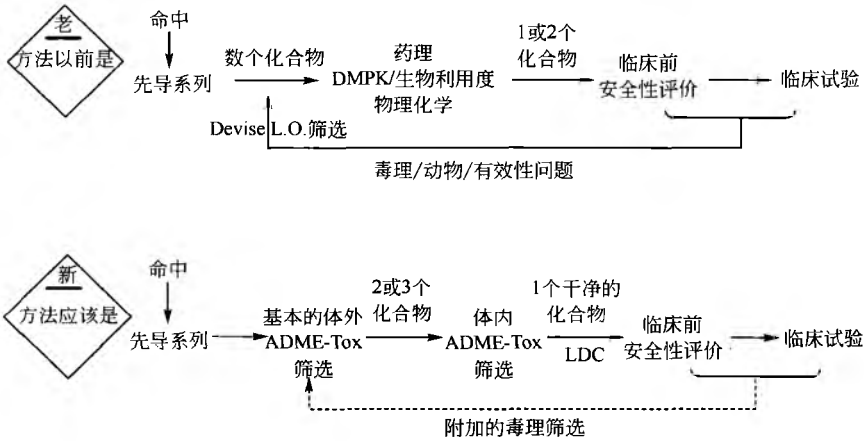


图 3　图示新药物分子先导优化的老的和新的战略。上部为老的方法，制药公司将命中的化合物通过发现和早期的临床前开发试验进行先导开发，实质上在该模式中不存在高通道的正式先导优化，只是在体内先导化合物失败时采用生物标记鉴别备份的化合物进行开发。下部显示新的方式，现在为大多数主要制药公司采用，在该模式中，在体内 ADME-Tox 预筛选和随后的先导候选物选择之前的开发早期，将正式的体外 PLOT 插入

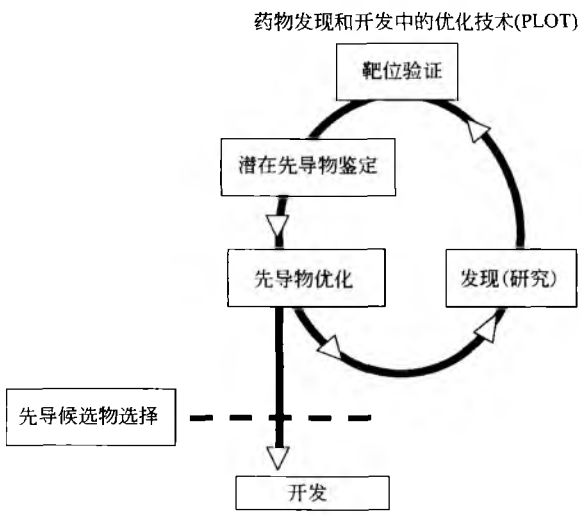


图 4　现代药物开发中的 R&D "流水线"

这些临床前的先导优化技术（preclinical lead optimization technology，PLOT）[1]必须充分迅速地与高通量筛选相结合，而不增加更多的线型瓶颈，能预测药物失败，并能使投入高度有效化（图 4）。构成 PLOT 平台的分析是典型的体外系统，小型化且实现了自动化，因此用最少量的化合物达到所需要的通量，这是促进先导优化的另一个关键的和限制性的因素（图 5）。通过伦理审查过程，制药工业认识到所谓 "3R"，即减少（reduction）、精练（refinement）和替换（replacement）[2]，已经在早期药物开发中，更易接受和选择性组合的体外模型已部分仪器化了。另外，为使研究者对 "3R" 有更多的注意，来自其他团体如英国上院动物实验选择委员会的压力，将有望通过公共的和商业的努力，将这些新技术整合进药物开发的过程中。

Y

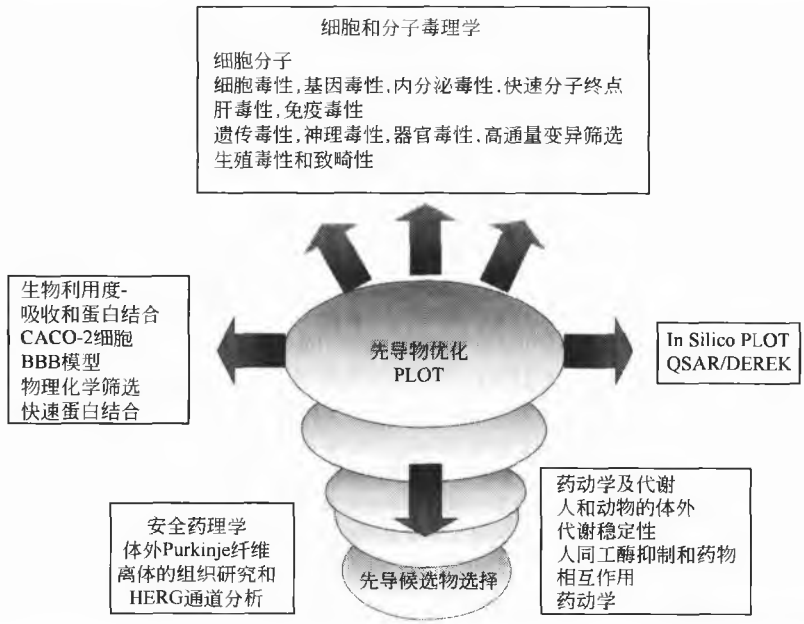


图 5 现代药物开发中的 R&D "流水线"

实践中的 PLOT

与任何新的模式转变一样，PLOT 的策略必须克服许多障碍。迄今，药物发现项目组对化合物开发做出的决定，主要基于体内化合物短期接触的毒理动力学数据，这对特异性器官毒性仅提供非常有限的证据。以前依赖体内数据；这是 PLOT 策略的一个重要障碍，因为在任何动物试验前，必须基于体外 PLOT 做出选择/排除化合物的决定。另外，因为 PLOT 评价后被选择作为药物开发的化合物还要进行法规要求的毒理学评价，那么 PLOT 筛选必须对已有的相应的法规具有预见性。这点被通行的高通量 SOS 报告基因变异性分析很好地阐述，它给出的结果与法规黄金标准 Ames分析的相关性很好[3]，并且与 micro-Ames 分析相比，仅需要十分之一的化合物量。

如表 1 所列，临床前/临床试验药物失败有许多单独的原因。这些包括变异、靶器官毒性以及差的生物利用度，后者是多种因素的结果，包括通过肠胃道时吸收不良、迅速清除或代谢。临床前/临床试验失败的一个主要因素是缺乏合适的、实用的和（或）敏感的靶器官毒性生物标记物，可以进行物种间危害和风险的推测。现在正期待分子毒理学（如毒理基因组学和蛋白质组学，看后面的章节）的到来将给毒理学生物标记物领域注入不容忽视的推动力，并在药物开发过程中与临床病理学测验组结合。最后，除非选择正确的非啮齿动物用于预测法规要求的毒理学研究，以预测人体安全性，药物失败或严重不良反应（ADR）可能直到完成临床前开发后才会发生。体外 PLOT 筛选有助于在开发的很早期选择正确的非鼠科动物。

表 1 早期临床前/临床试验失败的原因

不溶	导致生物利用度差
胃肠道吸收差	导致生物利用度差
快速清除和（或）代谢	
毒性是药理学的/靶器官相关的	
突变/致畸	
细胞毒性/肝毒性	
错误选择毒性试验动物以预测人体的安全性	
安全性试验体系的检测灵敏度低	
药物通过 P450 同工酶竞争/诱导/抑制发生相互作用	

PLOT 技术

测定法的最终选择及实施的顺序将取决于许多因素，包括先导系列的数目、化合物的可获得性（数量）、目标靶点、先导系列现有数据的性质和范围。理想的应该采用测量化合物的 ADME 行为的方法作用更高通量的基础或第 1 级的筛选，分析大的先导系列；将较低通量的毒理学分析用于通过第 1 级筛选的数量减少了的先导系列（表 2）。

表 2 高通量的基本筛选（第 1 级）和较低通量的毒理学分析（第 2 级）

第 1 级分析
理化筛选——实验和计算溶解度、logP、logD 和 pK_a
快速蛋白结合
诱变性——细菌报告基因分析（SOS 修复系统）和 DEREK（用计算机进行）
细胞毒性——MTT 或哺乳动物细胞神经红摄入分析
体外代谢 I ——肝细胞或微粒体培养后的化合物母体的损失

续表

体外代谢Ⅱ——药物-药物的相互作用，P450 特性和 P450 诱导
吸收Ⅰ——PAMPA
吸收Ⅱ——Caco-2 模型
吸收Ⅲ-细胞株转染药物转运蛋白
第 2 级分析
免疫毒理学——抑制淋巴细胞转化和组胺释放
生殖毒理和致畸——微量和全胚胎分析/干细胞分析
肝脏毒性——新鲜或冷藏保存的（人）肝细胞酶释放和四甲基偶氮唑蓝法（MTT）分析
内分泌干扰——酵母和哺乳动物报告基因分析（雌激素和雄激素）
神经毒性——脑球状体（中枢神经系统）和背根神经的神经突的生长（周围神经系统分析）
心脏毒性——HERG 膜片箝和（或）HERG 配基分析

因为差的生物利用度是化合物失败的主要原因之一，所以吸收和代谢分析在先导最优化筛选中非常重要。因为口服给药为药物输送的理想途径，所以通常采用预测通过胃肠道（GI）时低吸收的模型。Caco-2 细胞分析已经广泛应用于预测通过胃肠道的药物吸收，并且对某些药物的体外和临床数据间存在很好的相关性（图 6）。该分析也能预测作为 P-gp 输送蛋白的底物的化合物，P-gp 输送蛋白能导致被吸收的药物不希望地流回肠腔，导致药物的排出。Caco-2的一个缺点是通量相对较低，所以平行人工膜穿透分析（PAMPA）越来越多地作为较高通量分析，用于低成本地有效评价药物的被动吸收[4]。因为这些人工膜缺乏与主动转运/流出或代谢相关的细胞蛋白质，所以用特异性药物输送蛋白和人 P450 转染的 Caco-2 分析或细胞系可能在高穿透性化合物 PAMPA 分析中用作第 2 和第 3 级分析（综述见文献［5］）。

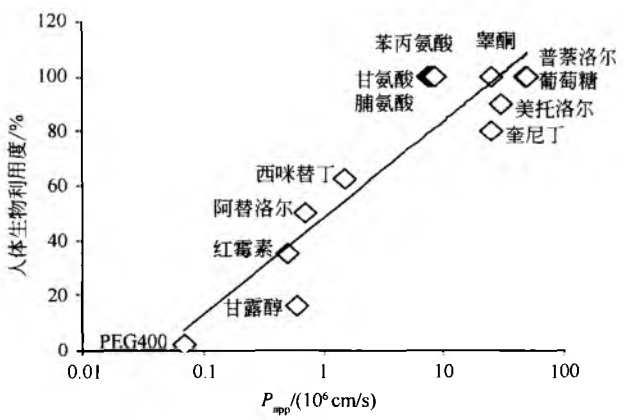


图 6 一系列已知药物的人体生物利用度与 Caco-2 细胞渗透数据（P_{app}系数）的相关性。（来源于 AstraZenca 公司 1998 年的数据）

用最小核心分析来筛选大的先导系列的原理可以很好地应用于第 1 级分析中的代谢评价（表 2）。在肝细胞、微粒体或 S9 抽提物存在时，体外代谢分析可能最初集中于化合物的稳定性，但在一个更严格的系列中会扩展到药物相互作用，这是因为表观代谢稳定性可能是 P450 功能抑制的一个结果。因为在人体中 CYP3A4 占全部细胞色素 P450 的 40%，并且负责临床用药物代谢的 50%，使得筛选该酶的抑制或诱导很有意义。CYP3A4 活性的调节传统上通过测定酶功能来研究，也就是睾酮代谢或通过聚合酶链反应或 Western 杂交来看酶水平，这可能对大系列的先导优化不是一个节约成本的有效方法。然而，最近对 CYP3A4 诱导的分子基础认识的进展已鉴定出 PXR（孕甾烷 X 受体）对其和其他 CYP 的药物诱导表达是重要的。结果，PXR 报告基因分析正用于筛选具有诱导 CYP3A4 的潜在性的药物[6]，阳性结果证明一个更透彻的研究是合理的。其他值得考虑的是那些存在功能多样性的酶，会限制药物在不同地区的上市。

变异性试验一般在化合物开发相当晚期时实施；然而，由于在我们实验室中法规要求的遗传毒性试验每年会产生 20%～25%的体外阳性结果，运气好时需进行进一步研究，这会导致严重的延误，运气最糟糕时导致化合物筛选失败，因此需要一个更快更早期的筛选。如上所述，现在有诱变性高通量报告基因分析方法可用，如 SOS/umu 分析。它需要的化合物量少，并且合适包含于 PLOT 平台中。这个微量分析的基础最初是由 Oda 等开发的[7]并由 Reifferscheid 等改良[8]，带有 SOS DNA 修复基因融合一个报告子的沙门氏菌，通过转录表达与 DNA 损害程度相关联的融合基因来预测 DNA 相应损害。有一个哺乳动物报告子分析系统，其中人的 DNA 修复基因与报告基因相融合，该系统被热切地期待着应用于实际中。

计算机模拟 PLOT

因为化合物的可获得性就化合物的使用而言是有限的，所以基于结构对化合物的分配系数、等电点和溶解度等理化参数进行计算机预测明显具有优点。药物的生物利用度的计算预测已由 Lipinski 的“五规则”最先开展，它基于化合物分子大小、氢键结合能力和亲脂性[9]。人们正在开展日益复杂的软件包用于分析化合物的结构-活性关系（SAR），如把毒性归于某些结构或基团特征。含有芳香胺的化合物将被标记为潜在的致突变剂，或存在蛋白结合基团的可用于鉴别潜在的致敏物质。

PLOT 和靶器官毒性

前述的基本 ADME 分析逻辑上在低通量的、器官特异性的毒理学分析的化合物研究之前，通常选择基于体内的单次暴露，这可能是药效和毒理动力学结合的终点，取决于化合物的可获得性。体内器官特异毒性的确认可能促进更进一步的先导系列的合成，使得在第 1 级的筛选中呈现最佳的 ADME 行为（表 2）。因为肝脏代表了毒性的一个主要靶器官，所以默认选择肝脏毒性的第 2 级筛选（如用肝

细胞），在体外用初始肝细胞检测酶释放或代谢活性。虽然获得新鲜人肝细胞始终存在问题，还是有望技术上的改进将克服目前在低温保存细胞质量上的不足。

体外分析逐渐被管理部门接受，从而影响了器官培养的选择。例如，ICH S7B 安全性药理学指南[10]推荐所有新药的心脏毒性除了要进行动物试验，还要研究药物在离体的心脏 Purkinje 纤维和（或）转染 HERG 通道的人细胞系中造成延迟的心室应答的可能性（图 7）。

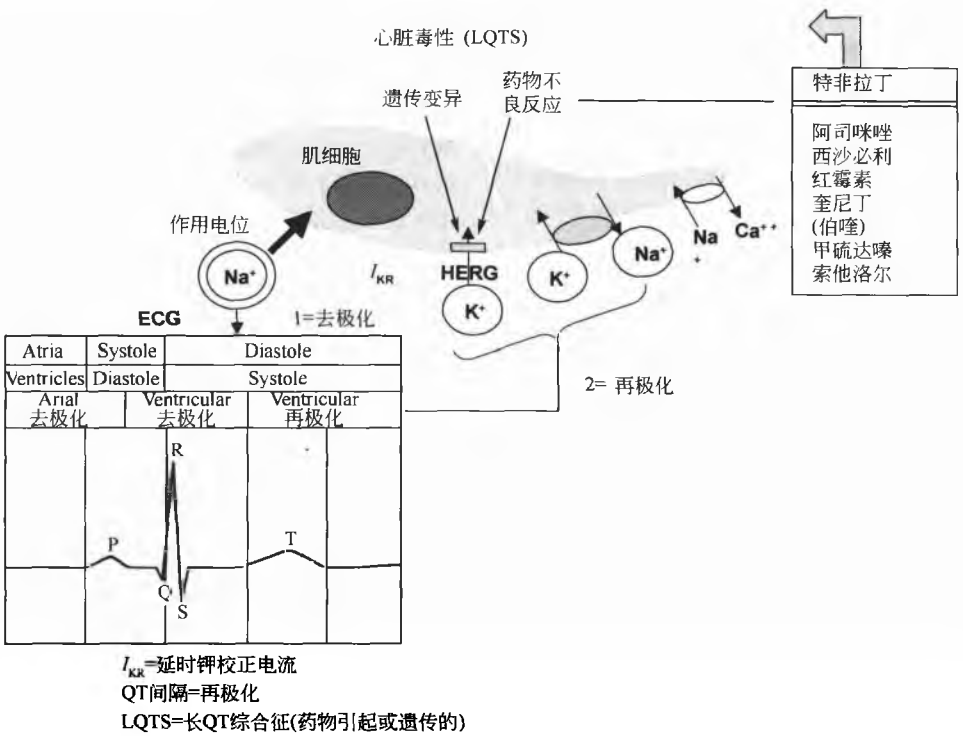


图 7 图示心肌去极化/再极化的主要细胞机理/离子通道。示意了药物通过阻断 HERG 通道引起的毒性和 EGG QT 间隔延长并引起 Torsades Des Points 的药物作用位点，同时列举了产生该效应的分子

对第 2 级分析的选择的合理性建立在预期的靶器官的基础上，因此用于中央神经系统或免疫系统的药物采用第 2 级分析进行筛选，如神经毒性或免疫毒性。免疫毒性筛选特别重要的第二个领域是与免疫损害患者相关的临床适应证，这种情况下需要进行免疫系统的功能评估，作为临床前开发的一部分[11]。包括艾滋病和器官移植患者，即使只有很小的免疫毒性副作用的化合物，他们也特别易受伤害。生殖毒性和致畸性的体外评价通常采用低通量的小鼠完整胚胎、微团培养（micromass）或蟾蜍试验。然而，该领域最近的进展是采用干细胞系验证体外胚胎毒性分析[12]，这对高通量是有用的，并且代表一个真正的第 2 级体外分析（表 2）。

总之，通过采用合适的体外筛选，第 2 级的体外分析可用于从先导化合物中选择最小靶器官毒性的化合物。这个体外筛选过程，与体内试验交替使用，在先导候选物失败时，必须通过合成和 PLOT 平台筛选随后的先导系列的情况下，可能扩展先导化合物的选择（图 3）。

刺激性、腐蚀性、敏感性和光毒性

这是工业化学通告和注册显著进步的领域，其中几个体外技术代替某些情况下的动物试验已经被立法通过或者在层级试验策略中取得了地位。欧洲医药评价机构（EMEA）对通过体外方法替代动物研究也持肯定的态度。

制药公司还没有广泛应用体外筛选分析在先导优化过程中检测潜在的皮肤和眼睛毒性。但是，因为其中一些分析将作为工人安全性/运输/临床前管理要求的一部分，所以在一些情况下可将这些测试作选择过程的一部分。已有体外分析可能适合对皮肤和眼睛毒性的评价，其中的一些最近在第 27 届技术过程改编会议上被 EU 管理机构所接受，随后被 ECVAM 成功地确认了。目前被接受的试验包括皮肤腐蚀性（如 EpiDerm®或大鼠皮肤经皮电阻）和光毒性（3T3 细胞）。其他还在验证的分析可能根据不同的情况也被管理机构所接受（如眼睛刺激），然而，当缺乏阳性结果时，动物实验还是需要的。除了腐蚀和光毒性，还期望体外试验最终能预测刺激性和致敏作用。

另外，如果考虑到制药公司要求静脉、眼睛或局部给药途径作为开发计划的一个策略部分，那么早期体外筛选应做同样的考虑。事实上，如果一个特定治疗类别的最终开发计划的确需要这样的途径，那么先导最优化过程（或一些后期的临床前筛选）能在早期阶段筛选其可能性。

分子毒性和 PLOT

已经证明体内和体外的毒理学结果不相关，可能是异常的快速坏死，因为它不需要通过 mRNA 转录或稳定而造成不同基因表达[13]。这些“应激”基因的响应为一进化手段，通过该手段，生物体能在敌意的环境中保护自己（图 8），激活生存或通过凋亡引起“自我摧毁”。那么，与化合物接触后应用微阵列技术［基因表达微阵列（GEMs 或 ToxChipS)］建立基因表达“指纹”或表达模式，然后，开发体外先导最优化过程的筛选系统，这对于关注药物安全性的临床前科学家很有吸引力。更多深入的关于应激基因及其表达模式的类型和程度的信息请看参考文献[13，14]。除了测量基因表达外，现在有可能通过如 Ciphergen 的蛋白质芯片的平台或用抗体微阵列的特异蛋白质谱，对细胞抽提物或体液实施高通量蛋白质组学谱研究。在基因表达和蛋白质的相关性较缺乏、RNA 向上调控的动态范围较小，或者蛋白质功能是翻译后调控的（如通过磷酸化）等情况下，分析蛋白质而不是 RNA 可能更可取。此外，因为生物标记物在血液和尿中可能很容易发现，它们为蛋白质组学分析提供了非损害性的起始材料。“组学”技术对新药发现和临床前/临床开发的现代研究和开发过程的潜在应用在图 9 中描述。最终，通过其不能打开应激基因或毒性基因的“模式”，该过程将确认一个先导开发候选分子（先导候选物选择）。临床前毒性基因组潜在所包含的逻辑类型在图 10 中描述，先导候选物在有机培养液中试验，或在体内与传统方法相结合用分子终端寻找毒性证据。与现存的体内和正在出现的体外数据库的比较，将越来越允许预测化合物的毒性，从而在体外进行进一步的先导最优化以寻找更干净的药物。这个毒理学 PLOT 筛选将运用更高通量的分子技术进行先导开发候选分子的选择。

法规要求的毒理学中的细胞和分子“工具”

在选择先导候选物以及进展至法规要求的安全性评估项目后，毒理基因组学能再一次用于完成临床前和临床危害和风险评估过程的不同方面（图 9），包括如上所述的相同基本技术的应用。但是在解释数据时可能有不同，并且更多的着重点可能放在非鼠科动物（如狗或灵长类）物种和人来源的细胞（体外或活体外）的应用上。当从动物进展到人安全性和Ⅰ期临床试验，以及到与新药开发相关的管理和流速注册过程的，这将有助于进行风险评估。

单核苷酸多态性（SNP）是指整个染色体上存在单个核苷酸差异，这个差异存在于不相关的个体之间。它们导致基因编码区域的改变，cSNP 可能会影响蛋白质效率或特异性，从而可能最终导致药物不良反应（ADR），与一些 P450 多态性的情况相同。这个问题通过某些 CYP2C9 多态性和华法林相关的出血得到了很好的阐述。SNP 数据库的使用将使得药效遗传学通过 SNP 谱预测新药个体应答时减少不确定性。如此 SNP 的药物毒理遗传分析将增添信息，为志愿者或患者做出更好的选择，并将确保注册药物的药物适用试验和治疗的最佳安全性/有效性评估（图 9）。药物毒理遗传学的重要性在管理部门没有失去，欧洲医药评价机构和制药工业界正在进行对话，以讨论该技术对临床实验设计的意义[15]。

障碍和未来之道路

极为重要的是要记住，上述的将临床前和分子临床技术应用于规范药物开发中的毒理学和人的风险评价，有可能将某些制药组织排除在使用这个策略之外，直到法规的观点被更清楚地定义。包含常规组织病理学、血液学和临床化学数据的毒理学生物信息数据库（也包含基因表达数据）正在不断发展，并试图将这些新的分子技术与那些已经建立起来的并为毒理学者所熟悉的生物标记物联系起来。商业组织（如 Memorec 和 Genlogic Inc）以及学术和政府管理机构现在都关注这一需求，并且应用体内和体外试验数据于药物和工业化学试剂领域。特别是人和大鼠肝细胞最近被广泛用于验证研究，并且毒理基因组学数据与体内动物暴露数据一起整合进数据库[16,17]。另外按实用主义的观点，依照这些新的和相对不为人所知的敏感分子生物标记物组，可能有需要重新定义在从动物到第一次人体内试验过程中正式的风险评估过程（从定量的立场），因为这些敏感分子生物标记物组从经典毒理病理学的端点可能造成不同的无观察效果水平/最低观察效果水平，从而在风险评估中造成安全范围因素水平潜存不同。

在本章中，我们已经叙述了 ADME 第 1 级和器官毒理学第 2 级 PLOT 平台分析怎样与高通量筛选结合，以帮助决定一个先导开发候选物的选择。可以看到的是体内试验后，组织病理学越来越多地与更敏感的开放基因阵列或组织的蛋白质组学分析一起，作为鉴别新的毒理病理学生物标记物的方法，为临床前毒理学和人安全性评价。在研究开始之前，在药物开发和安全性评价中预见到新的目的地是不可能的。在这个旅途中，收集到更多的信息并造成“人员伤亡”，因此对分子毒理信息学的综合数据库的需求应建立在不同的动物和人上。

因而非常清楚的是我们正进入一个先导最优化技术和药物开发的新纪元。由于我们从“老的”转移到“新的”药物分子先导最优化模型（图 3），整个制药工业界协调的临床前策略正逐渐被整合进研究计划中，并且一直别忘记需要将 Russell 和 Burch[2]的三个“3R”原则应用于安全性试验。

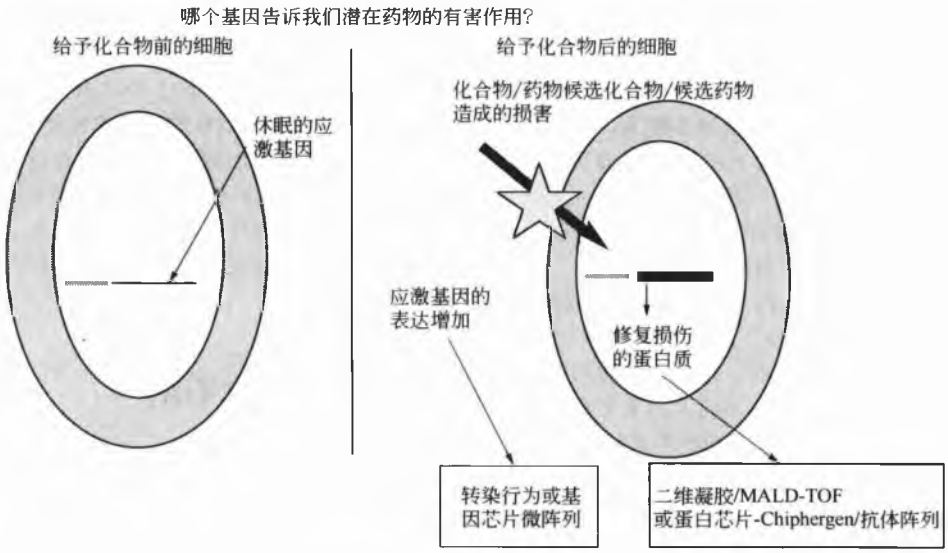


图 8 毒性损害中的细胞和分子行为和测量损害的技术

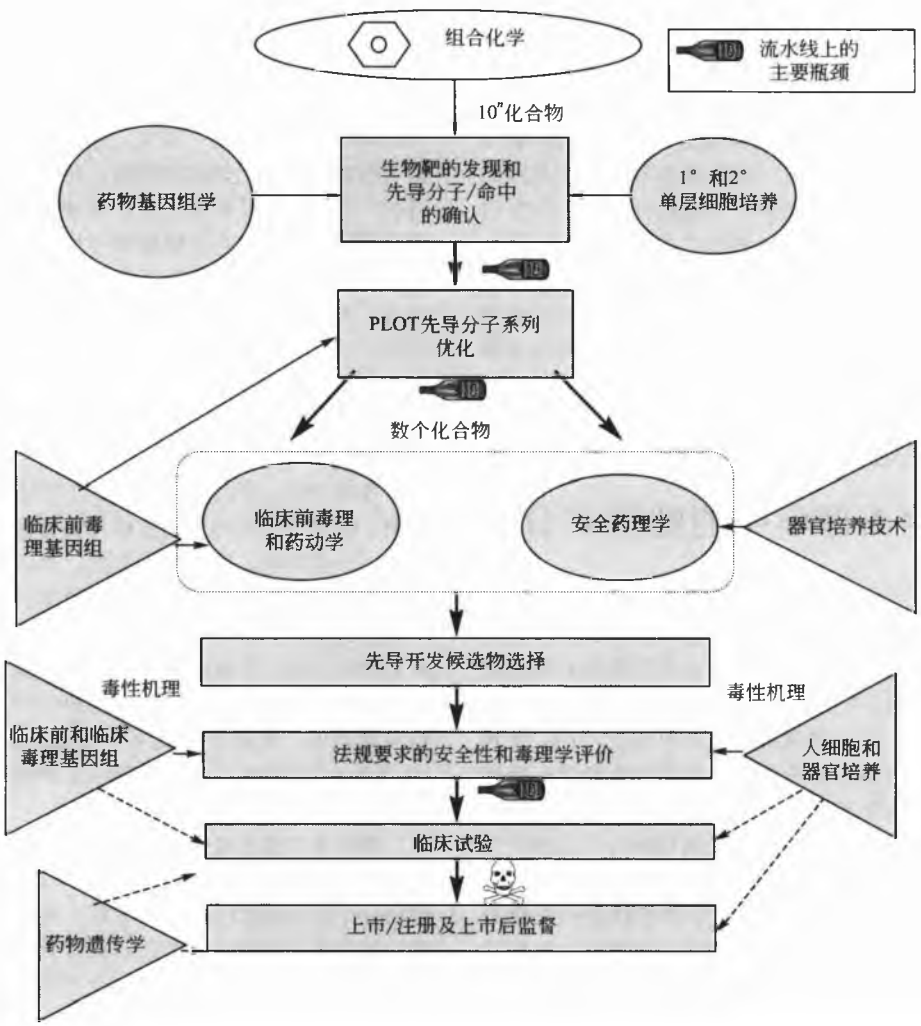


图 9 图示药物发现和开发的各个阶段，药物基因组、毒理基因组和药物遗传学可以和各种细胞培养技术先后用于更复杂的例子，也显示了过程中不同的潜在瓶颈

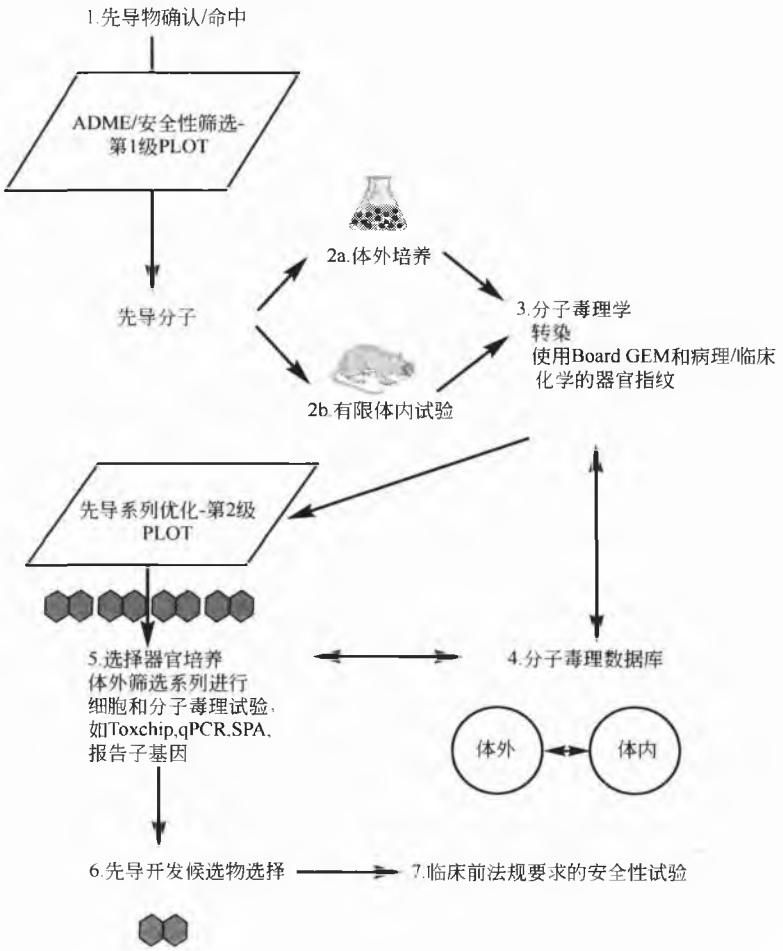


图 10　采用毒理基因组技术选择先导开发候选分子的可能策略。应用基本的 PLOT/ADMET 筛选（第 1 级的 PLOT）进行大量分子的先导优化后，一个或数个有希望的候选化合物可以给一只动物大剂量服用，其器官病理和生化可以和组织应激基因的表达采用基因芯片/蛋白质芯片技术进行比较。得到的信息，与数据库中毒理相关的应激基因/蛋白质指纹资料一起，用于建立细胞/体外筛选系统（第 2 级的 PLOT），基于主要的基因/蛋白响应子从进一步的先导系列中筛选出毒性分子。基于一套 ADMET/PLOT 和细胞靶器官毒性资料，选择先导开发候选物供进一步的体内试验和完整的临床前安全性评价

参 考 文 献

1. Approaches to High Throughput Toxicity Screening; Atterwill, C. K., Goldfab, P., Purcell, W., Eds.; Taylor and Francis: London, 1999.
2. Russell, W. M. S.; Burch, R. L. The Principles of Human Experimental Technique; Methuen: London, 1959.
3. Reifferscheid, G.; Heil, J. Validation of the SOS/umu test using test results of 486 chemicals and comparison with Ames test and carcinogenicity data. Mutat. Res. 1996, 369, 129.
4. Zhu, C.; Jiang, L.; Chen, T.-M.; Hwang, K.-K. A comparative study of artificial membrane permeability assay for high throughput profiling of drug absorption potential. Eur. J. Med. Chem. 2002, 37, 399—407.
5. Mizuno, N.; Sugiyama, Y. Drug transporters: Their role and importance in the selection and development of new drugs. Drug Metab. Pharmacokinet. 2002, 17 (2), 93—108.
6. Luo, G.; Cunningham, M.; Kim, S.; Burn, T.; Lin, J.; Sinz, M.; Hamilton, G.; Rizzo, C.; Jolley, S.; Gilbert, D.; Downey, A.; Mudra, D.; Graham, R.; Carroll, K.; Xie, J.; Madan, A.; Parkinson, A.; Christ, D.; Selling, B.; Lecluyse, E.; Gan, L.-S. CYP3A4 induction by drugs: Correlation between a pregnant X receptor reporter gene assay and CYP3A4 expression in human hepatocytes. Drug Metab. Dispos. 2002, 30 (7), 795—804.
7. Oda, Y.; Nakamura, S.; Oki, I.; Kato, T.; Shinagawa, H. Evaluation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. Mu-

tat. Res. 1985, 147 (5), 219—229.

8. Reifferscheid, G.; Heil, J.; Oda, Y.; Zahn, R. K. A microplate version of the SOS/umu-test for rapid detection of genotoxins and genotoxic potentials of environmental samples. Mutat. Res. 1991, 253 (3), 215—222.
9. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Deliv. Rev. 1997, 23, 3.
10. ICH S7B Draft Guideline on Safety Pharmacology Studies for Assessing the Potential for Delayed Ventricular Repolarisation (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals; 2001. http: //www. emea. eu. int.
11. US FDA Guidance for Industry — Immunotoxicological Evaluation of Investigational New Drugs; April, 2002. hhtp: /www. fda. gov/cder/guidance/index. htm.
12. Genschow, E.; Spielmann, H.; Scholz, G.; Seiler, A.; Brown, N.; Piersma, A.; Brady, M.; Clemann, N.; Huuskonen, H.; Paillard, F.; Bremer, S.; Becker, K. The ECVAM International validation study on in vitro embryotoxicity tests: Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. ATLA 2002, 30, 151—176.
13. Farr, S.; Dunn, R. T. Review: Gene expression applied to toxicology. Toxicol. Sci. 1999, 50, 1—9.
14. Kind, C.; Hammond, T. Early Toxic Stress or Genes—Modulation and Screening Technologies. In Approaches to High Throughput Toxicity Screening; Atterwill, C. K., Goldfarb, P., Purcell, W., Eds.; Taylor and Francis: UK, 1999.
15. EMEA. Report to CPMP on the EMEA Seminar on the Use of Pharmacogenetics in the Drug Development Process (CPMP/1483/00); 2002. Web site http: // www. eudra. org/ humandocs/Humans/General. htm.
16. Mendrick, P.; Higgs, B. W.; Porter, M. W.; Castle, A. L.; Orr, M. S. Using gene markers identified from a large database built with primary rat hepatocytes for prediction of human hepatotoxicity. Toxicologist 2003, 72 (S1), 244.
17. Tang, L.; Komoroski, B.; Tiegler, K.; Tibbits, J.; Nolan, T.; Suizu, R.; Neft, R.; Kier, L.; Strom, S.; Li, A. P. A comparison of array hybridization, mRNA differential display and real-time PCR in the evaluation of the effects of Troglitazone on gene expression in primary human hepatocytes. Toxicologist 2003, 72 (S1), 149.

（张 辉 译）

药物滥用

Richard B. Seymour
David E. Smith
Haight Ashbury Free Clinics, San Francisco, California, U. S. A.

引言

药物滥用可表现在多种程度。服药习惯化就是一种明确且可能有害的用药模式。药物滥用定义为一种引起健康问题、社会问题或两者均有的有害用药模式。药瘾是一种可复发的、进行性发展的慢性脑病，如果不治疗可能导致死亡。药瘾无法治愈，但可以通过系列治疗、禁用所有精神药物、康复支持治疗而缓解。一般来说，被滥用的药物属于有精神作用的物质。这些药物主要作用于大脑和中枢神经系统，包括阿片类、镇静催眠药、刺激剂和致幻剂。近来发现，成瘾性药物还包括兴奋剂，如甾体类药物以及联合用药后产生兴奋作用的多种药物。

药物使用和滥用的水平

Inaba 和 Cohen 列举了药物使用和滥用的六个水平[1]。这就是：①戒用；②试用；③群体性/消遣性使用；④习惯性；⑤药物滥用；⑥成瘾性。不同水平并不是逐级发展，但是其象征着个体用药问题的一种渐进关系。

1. 戒用

戒用是指不使用任何有精神作用的物质。不过，在我们的文化里或者其他任何文化里，实际上是不可能完全避免使用有精神作用的物质的。几乎所有人都有使用镇痛药的经历。大多数软饮料、茶，当然还有咖啡，都含有咖啡因——一种强效刺激剂。然而，享用这些的人认为自己是戒用精神药物的，除极少数情况外，区分某种情况是否是戒用也是没有意义的。

就药物滥用或成瘾性程度而言，这种意义上的戒用者是没有危险的。发展成滥用需要最初使用强效药物。成瘾性可能存在基因易损性，但是也受环境因素影响，即只有开始使用才能导致成瘾；只要他或她一直戒用，就不会成瘾。

2. 药物试用

当个人对某药作用产生好奇或者受亲戚、朋友、同事或者广告和传言影响，常常会试用某种药物。20 世纪 50 年代末和 60 年代初，许多年轻人试用大麻就是由于这个原因。尽管他们从学校、父母、老师和其他权威机构那里听到大量关于该药的不良作用，但是他们对它如此好奇，以至于这份好奇超越了所有警告。

不过，试用不能算一种用药方式，通常它危害最小。个人在偶然的情况下偶尔使用，尚没有觅药行为，后果最轻。当然也有例外，如以下情况：

- 大剂量使用可能发生意外、损伤或疾病，如高校或大学里在同学压力下狂饮酒；
- 因过敏或特异性体质反应极少量药物引起身体强烈反应；
- 恶化或触发先前的身体或精神状况；
- 怀孕期使用；
- 使用导致法律问题，如药物试用不果而失去工作或因着魔而逮捕；
- 成瘾反应，敏感性个体一旦接触将直接触发滥用或成瘾。

3. 群体性或消遣性使用

群体性或消遣性使用药物就是个人体会去寻找某种药物或用药条件。不过，还未形成固定模式。虽然不规则、不经常用药，但还是对个人生活有一定影响。除了前面列举的所有可能外，寻药行为非常有可能发展成某种固定的用药模式。

4. 习惯性用药

习惯性显然就是形成了明确的用药模式。习惯性包括早晨必须以一杯咖啡开始一天的工作，或回家后必须以一杯马提尼酒放松一下来结束当天的生活。只要没有真正危害他人或自己，这一类持续用药属于尚可接受的习惯性。不过，必须注意一点，这种习惯性极易演变为滥用。习惯性意指使用者已经失去某种控制，其使用已经变成一种习惯，而且不知不觉中可能成为一种坏习惯。

5. 药物滥用

药物滥用可能是短暂的，如应付压力，展示某种社会和文化方式，不可抗拒的环境影响，或适应某种需要. 例如，经过一天沉重脑力工作而缺乏身体锻炼，服用镇静剂来帮助入眠；服用咖啡因或其他兴奋剂应付 24h/7d 的生活方式；与朋友周末熬通宵或回家路上与同事泡酒吧；酗酒以逃避不想直面的危机；或职业体育竞赛服用甾体类药物舞弊。

另外，药物滥用可成为长期性的。不管怎么说，药物滥用行为是有规律发生的。这种行为已经融入滥用者生活，成为其日常生活的一部分。例如，一个抽雪茄的人只要早上醒来，打电话也好，坐下来吃饭也好，无论在做什么，

他或她都必须抽雪茄。尽管如此，这种问题还不是成瘾性。

6. 药物成瘾性

药瘾是一种脑病，其特征是强迫性，失去控制，即便知道其不良后果，仍然继续使用。Inada 和 Cohen 将强迫性定义为“花掉自己绝大多数时间要么是在使用，要么是去搞到，要么就是想着某药”，它介于滥用和成瘾性之间。Seymour 和 Smith 认为“失控”是关键点[2]。在康复中心，这就是一个使用者从活灵活现变得萎靡不振的关键点。

成瘾性疾病的特征是强迫性、失去控制地过度使用一种或多种药物。在此，我们有个例子，某人外出，发誓饮酒绝不超过 2 杯，却喝得过量，出现暂时的眩晕，完全不记得回家。明知其不良后果，仍然继续使用，如即使失去家庭、地位和事业仍要使用可卡因，或者尽管患肺癌，每天仍然吸 2～3 包雪茄。

成瘾性逐渐加重，如不治疗可致命。成瘾性是不可治愈的，不能回复到非强迫性、非失去控制状态。在康复中心，据说一个活灵活现的人还是可以保持原状，一旦变成蔫瓜，再也水灵不起来了。不过，尽管不可治愈，通过戒用所有精神作用的物质和一系列支持康复治疗，该病可以得到缓解。

仅仅戒用本身对治疗成瘾性是不够的。成瘾性是低级脑功能，不被意愿所控制。药瘾可以耗尽成瘾者所有的意志，企图抵抗会变得僵化，出现正如大家熟知的“令人恐慌的清醒”。戒断症状如此难受，就像坐在汽车上的司机抓得太紧以至于手关节都没有了血色。无论是驱车前行还是维持成瘾者康复都无路可退。康复治疗对于成瘾者来说是毕生的事，他们需要帮助[3]。

精神作用药物的性质

精神作用药物是与脑中天然存在的、作为神经递质在脑细胞间传递信息的化合物结构相似的物质。由于相似性，这些化合物能够通过保护大脑血脑屏障而免受外来物质的破坏。一旦进入脑组织，所有精神作用药物就能产生作用，其或刺激神经递质释放，或抑制神经递质释放，或阻断神经递质再摄取，或模拟脑自身的神经递质。通常，这些作用是产生愉悦感，减轻疼痛或压抑，缓解焦虑，并且药物比内源性物质作用更快更有效。这就是这些药物最初的吸引力，人们正是利用它们的这些作用，至少在短期达到人们所要的目的。

精神作用药物的分类

除了少数几种例外，人类滥用的大部分精神作用药物一般可分四类。这四类是：①阿片及其类似物；②镇静催眠药；③刺激剂；④致幻剂。还有部分滥用药属于上述这几种基本类别以外，如乙醚和其他麻醉药以及甾体类药物；或者被认为不单单归属于某一类，包括兴奋性致幻剂。尽管精神作用药物药理作用各异，但是它们有几种共同作用：

- 主要作用于脑和中枢神经系统，因此文献中也称为中枢神经系统药物；
- 化学结构与脑内源性物质相似，能够通过保护脑避免受外界物质损伤的血脑屏障；
- 能够刺激、抑制或模拟人脑内天然神经递质而发挥作用；
- 当它们在脑中发挥活性时都能产生某种程度的抑制解除后的欣快感。这种抑制解除后的欣快感就是精神作用药物最诱人之处。

1. 阿片类药物

麻醉药/止痛药早已应用在医学上用来缓解疼痛，最初引起滥用的原因是它们可以诱导产生欣快感和镇痛。阿片的历史可以追溯到公元前 4000 年亚述人关于罂粟果女神的描述。19 世纪，英国人从印度大量出口鸦片到中国，从而使吸鸦片在中国形成地方病。20 世纪，在英国，很容易从卖药者手中买到含 2～3 格令（1 格令＝64.8mg，下同）的阿片丸。据说，就是这些阿片丸以及阿片酊使英国许多浪漫主义和前拉斐尔时代的作家和艺术家成瘾。在美国乡村，掺有阿片与可卡因的药品和补药经常被游走的“万灵油”药贩卖给患者。那个时期典型阿片滥用者是“中年中产阶级有孩子的白人妇女”。

天然类罂粟碱，也就是直接从阿片中提取的类罂粟碱包含可待因——常用于牙科及其他术后镇痛；阿片酊、阿片樟脑酊——阿片与樟脑混合的缓和的酊剂，以及吗啡主要用于治疗腹泻。海洛因是由吗啡和二乙酰酸半合成的。合成的阿片类有很多种，包括强效的芬太尼（Sublimaze®）、美沙酮——用于吗啡和海洛因成瘾性治疗，一线镇痛药哌替啶（杜冷丁）、氢吗啡酮（Dilaudid®）和羟考酮（Percodan®）。

1.1 阿片类的药用

天然和合成的阿片类历史上一直属于药用，现在主要用于缓解疼痛和焦虑。用于无痛疗法时，阿片类可以诱导产生舒服感或欣快感，高剂量可引起嗜睡，有时指浅睡眠状态。它们能够产生不受环境伤害和心理痛苦的幻觉，就如使用者所描述的“像躺在柳条编制的摇篮里”的感觉。阿片类也能止泻和镇咳。

1.2 阿片类如何发挥作用

阿片类与脑中天然存在的某些神经递质分子结构相似。由于这些相似性，该类药物能够透过血脑屏障，能够占据神经递质的受体位点。脑内这些物质被称为脑啡肽，就是内源性吗啡。内啡肽在我们体内发挥天然镇痛作用。

如果把疼痛看成身体不适给我们的信号，那么内啡肽就是调节这种信号的。感觉的顺序大致如下：看到锤子砸了你的手指，立即感到强烈的疼痛。大脑收到信息，“停止用锤子砸你自己的手指!”你跳起，大叫疼。手指确实受了伤。不过，过了一会儿，你虽然仍然能感觉到受伤的手指

部位有些疼，但是锐痛已消失。脑释放的内啡肽已与受体位点结合，从而阻止锐痛信息继续传入你的神经中枢，甚至还会给你一点点欣快感。

1.3 阿片类的非医用和滥用

阿片类药物提供了内源性疼痛信息处理模式的超强放大版本。除此之外，使用阿片类药物提供了沉迷于这种强化的反馈系统（欣快感）的机会，而正常情况下，这种反馈系统仅限于执行物种特异性求生行为。这种经验印入使用者大脑，成为与吃饭、喝水和性一样非常重要的事情。结果，使用阿片变成一种需求驱动状态，从而渗透到生活的各个方面。这种特性驱使使用者把这类药物用于非医用和滥用。非医用通常包括自我给药、误用处方。例如，慢性疼痛患者去黑市上寻找阿片类药物来缓解疼痛，尽管他们或她们已经在服用治疗疼痛的处方药。

无论是由于医源性原发还是街头药物继发引起的，阿片类药物的成瘾是该类药物任何一种都可能发生的，街头成瘾者一般倾向于吗啡和海洛因，它们可从非法商贩那里弄到。中产阶级成瘾者和健康专家更易获得类阿片处方药。不过，随着时间推移，成瘾者的地位和获得药的途径也会改变。

1.4 阿片类药物的吸收

阿片类药物可以是口服丸剂或液体制剂，如可待因或许多以阿片为基础的镇咳和止泻处方药。可以用于皮下、肌内或静脉注射，注射更能够增加快感。例如，据使用者描述，瞬间药物反应就好像全身所有器官都兴奋起来。据说，静脉注射产生的兴奋最强烈。由于阿片类药物的花费昂贵和得到困难重重，黑市药物价格一般又较低，因此吸毒者通常考虑用更经济性的给药方式。注射能够使药物直接进入血液，没有损耗或代谢，因此浪费最少。不过，因为海洛因效能较高，通常选择吸入或“追鬼”方式。实际上吸入是阿片类或其他类药物最快进入脑的给药方式，甚至比静脉注射更快。进一步来说，共用针头可能导致艾滋病、丙肝以及其他疾病传播，因此吸毒者认为吸入是阿片最安全、高效的使用方式——通常被他们称为非成瘾性。

1.5 躯体依赖性

阿片使用者有躯体依赖性的典型症状。包括耐受性升高和躯体戒断症状。耐受性就是随着时间推移，要达到同样效果必须提高给药量。躯体戒断症状会在最后一次用药后数小时内发生，包括一系列流感样症状。戒断症状是由独立于反馈系统的神经通路介导，戒断症状确实能威胁生命，继发的生理和心理反应往往导致重新使用阿片类药物。戒断症状是使人经常不惜一切代价继续使用阿片的强大力量。

2. 镇静催眠药（包括酒精）

镇静催眠药和抗焦虑药属中枢神经系统抑制剂，通常药物用于减少焦虑或诱导入眠，也用于抗惊厥。例如，苯巴比妥常用于有癫痫发作倾向个体的维持给药。一般来说，镇静催眠药包括酒精、巴比妥类、苯二氮䓬类和某些巴比妥样药如水合氯醛、格鲁米特、甲丙氨酯和甲喹酮。

2.1 镇静催眠药药用历史

镇静催眠药的历史就是人们寻找一种或一类既能产生理想药效又不产生依赖性，也不使人感到虚弱，或者说没有威胁生命的副作用和药物过量危险的新药的过程。在19世纪，焦虑和失眠一般都用阿片制剂、溴盐、水合氯醛（1869年开发）、三聚乙醛（1882年开发）和酒精治疗。以上每一种药物都有其缺陷。溴盐能引起慢性溴中毒，许多患者拒绝服用酒精，水合氯醛和三聚乙醛有令人反感的臭味。结果，巴比妥类的开发作为一个重大突破大受欢迎。

2.2 巴比妥类

巴比妥类都是巴比妥酸的衍生物，巴比妥酸最初来源于尿酸，1864年由德国化学家阿道夫·凡·拜尔博士合成。Conrad和Guthzeit于1882年合成了第一个巴比妥类化合物，5,5-二乙基巴比妥酸（巴比妥）。1903年，Emile Ficher和Baron Josef von Mering首先将巴比妥用于临床，商品名佛罗拿（Veronal®）。苯巴比妥保留了巴比妥盐典型T形结构，最早于1912年以商品名鲁米那（Luminal®）上市。不幸的是，巴比妥类中毒与酒精中毒性质相似，产生了滥用的相似问题。

2.3 苯二氮䓬类

临床广泛认可和应用的一类中枢神经抑制剂是苯二氮䓬类。这一类药也称为弱安定药，已经开发使用了30年，最初应用的是氯氮䓬（利眠宁®），很快又开发了地西泮（安定®）。从那以后，各种不同的苯二氮䓬类药物被合成，包括阿普唑仑（三唑安定®）和三唑仑（酣乐欣®）。苯二氮䓬类作用持续时间和特定适应证各异，但是它们化学结构相似，都会产生交叉耐受性。

2.4 强安定药

强安定药像吩噻嗪类，包括氯丙嗪（Thorazine®）通常不易导致消遣型滥用。这类药最常见的问题是处方错误或一些健康专家对它们的作用缺乏了解。尽管已经有少数因大剂量服用这类药而导致死亡的案例，但是他们认为这类药没有成瘾性，很难用于自杀。这类药最明显的问题是锥体外系反应，包括颜面和其他头颈部异常运动，也能产生帕金森病症状如静止震颤、强直和小步步态。

2.5 酒精

酒精能引起甲醇和乙二醇中毒，因此已限制酒精全身给药，但是酒精依然是一种优良溶剂，广泛用于许多制剂中。酒精也是局部消毒剂，并且可以通过蒸发而退热。中世纪炼金术士认为它是“长生不老药”，到现在，这种称号

还存在于某些欧洲水果白兰地中，统称为白兰地酒。

尽管某些文化明确禁止饮酒（特别某些但非全部穆斯林文化），但是大多数人已经接受这种药，人们在庆典和娱乐时总会饮些酒，至少适量饮些酒。同时，酗酒或者说酒瘾也是世界性的问题，大多数文化一般都反对与过量饮酒相关的行为，如酒后驾驶。

作为一种消遣性物质，酒精在全世界范围内的用量仅次于咖啡，其滥用对健康的危害仅次于烟草。近年来，美国公众对饮酒的利弊说法不一。据说适量饮用葡萄酒可以保护心脏，远离心脏病，但是同时，除了吸烟之外，与酗酒相关的死亡比其他任何精神作用药物都多。虽然酗酒和酒精滥用几乎没有治疗办法，但是法国酿酒业和美国加利福尼亚州已经在圣弗朗西斯市的加利福尼亚大学设立了数百万美元的基金项目来研究酒精的神经化学，如果有可能，可以开发酗酒的治疗方法。缓解酒精成瘾是酗酒匿名者协会成立的目的，该协会成立于 20 世纪 30 年代中期，现在，该组织已经有遍布全世界的成千上万的会员。

酒精一般以液体形式被饮用，如啤酒、葡萄酒、白兰地和硬饮料等。众所周知，通常所说的酒精就是乙醇。乙醇能够快速而有效地进入胃、小肠和结肠后吸收入血液。近来研究显示，女性比男性能更有效吸收酒精。酒精随血流被分布到全身各个部位，包括孕妇的胎儿体内。酒精在肝脏被代谢，被乙醇脱氢酶和其他氧化剂以一定相对速率常数转化成乙醛。

2.6 不良反应

所有该类药物超过镇静催眠剂量的反应或中毒反应都相似。乙醇是典型的镇静催眠药物，尽管饮酒后可能降低睡眠质量。中毒反应主要是降低肌肉和身体的敏捷性，导致判断失误，步态不稳，说话含糊不清，反应慢，意识困难。组织依赖性发展时，可能发生一过性黑朦，就是身体行为在继续而精神意识暂时丧失。一过性黑朦对于有些使用者特别危险，他或她会忘了已经吃过几粒药，吃了多大剂量，一时疏漏而导致药物过量。欣快抑制解除状态能够迅速逆转为烦焦不安或者甚至于伴有强烈行为发作的暴怒反应。最严重的阶段，中毒个体可能晕倒，或者极端的病例昏迷以致休克，需要急诊抢救。任何镇静催眠药急性中毒都有生命威胁。

2.7 长期滥用

长期滥用镇静催眠药可能导致记忆损伤、慢性认知和精神运动损伤。由于肝脏对这些药物代谢越来越强，产生耐受性；不过，致死剂量依然不变。也就是说，镇静催眠药滥用者需要并使用更高剂量，他或她就越来越接近致死剂量。进而，随着使用者年龄增高，年龄依赖性、耐受性也会发生，镇静催眠药对 50 岁人的作用比 20 岁人强 5～10 倍。

2.8 交叉耐受性和交叉依赖性

交叉耐受性意思是说对任何一种镇静催眠药耐受，将对同类中其他任何一种药也耐受。交叉依赖性意思是使用这类药物中任何一种或任何一种阿片类药物都能提高其依赖作用，如果滥用者不易弄到原先使用的药，滥用者可能转向使用这类药中其他药物来补充或替代。

2.9 协同作用及其危险性

当不止一种包括酒精在内的精神抑制剂合用时，它们会发生协同作用。协同作用会比每种单独作用的简单相加作用更强。肝脏倾向于选择优先代谢，如从地西泮不易过量使用的角度来看，被认为是相对安全的。不过，如果同时服用酒精和地西泮（安定），肝脏忙于代谢酒精，地西泮就全量进入脑。结果可能发生暂时的眩晕，如果患者正在吃药，可能忘了已经服过药而再吃一次，极端情况可以导致呼吸抑制。这些协同作用导致每年有超过 4000 病例死亡，差不多有 50 000 例因不良多药合用反应的急诊病例。

2.10 它们如何工作

苯二氮䓬类、巴比妥类和乙醇能够立体特异性地与最近发现的中枢神经系统的受体结合。一般认为，中枢神经系统作用的镇静催眠药的作用十分复杂，包括 γ-氨基丁酸（GABA）受体（γ-氨基丁酸是脑中最主要的抑制性神经递质），还有氯离子通道（氯离子通透的通路）[5]。

GABA 受体是苯二氮䓬的主要作用位点，其结合作用过程非常复杂，但是也提高了开发苯二氮䓬激动剂、拮抗剂和反激动剂的可能性。苯二氮䓬拮抗剂如 R015-1788 或氟马西尼为治疗药物过量和长期滥用提供了更多选择机会。

3. 兴奋剂

中枢神经系统兴奋剂除了兴奋作用与抑制剂明显不同外，这两种精神作用物质还有许多根本不同的特点。虽然中枢神经系统兴奋剂会产生成瘾性，但是使用者不会稳定地提高耐受性。相反，作为作用于突触前的药物，它们能够使脑自身提供的作用于交感神经系统的兴奋性神经递质耗竭。当这类药不再产生其要求的兴奋作用时，导致有使用兴奋剂习惯的人必须被迫间歇性使用，以使脑能够重新补充交感神经递质。

最常见的兴奋剂药物是咖啡因和尼古丁（烟碱），它们的使用确实是遍及全世界。近年来，随着调查研究的深入，尼古丁的害处已经被人们认识到，尤其是在美国，大家已经公认烟草至少每年要为 40 万例死亡负责。在尼古丁越来越多地被停用的同时，咖啡因正受到青睐，好像越来越流行。可能是因为随着公众健康意识的升高，人们已经注意到烟酒的危害，大多数人感觉也就剩这一个中枢作用的药物还可以使用。咖啡店已经成为我们这个社会的社交中心，各种各样的咖啡制品的市场也明显增加。

3.1 咖啡因

一般来说，咖啡、茶、马代茶、可口可乐和其他苏打饮料非常普遍，以至于人们几乎不把它们看成药了。除了

对咖啡因高度敏感的个体外，咖啡因本身对使用者的健康是有益还是有害一直存在争议。毫无疑问，咖啡因是一种中枢神经系统药物。众所周知，很多人有每天必须使用咖啡因的躯体依赖性。如果突然停用，也会发生戒断症状，包括头痛和眩晕。另外，除了牛奶之外，咖啡价格不断上扬，很难找到使用咖啡因的特有的不良反应。一些作家如M. D. Audrew Weil，在他的处女作《自然的思考》中[6]，经常提到内源性有精神活性物质在文化领域的使用有利于提高生活质量而非有害的。最常见的例子是植物性兴奋剂，如在非洲和近东喝的阿拉伯茶及南美高地咀嚼的可可叶，可以提供由于食物中贫乏而流失的维生素，是使用者难得找到的兴奋剂。

对于成瘾形成的强迫症，没有亲身经历过的康复人员是很难理解的。药物滥用教学课上，Richard Seymour询问有多少人有饮用咖啡的习惯，大多数人都举手。然后他说，“当你起来后，不能喝到你早上的第一杯咖啡，然后反复如此。想想自己的感受，那就是兴奋剂强迫症使用者的感觉”。

3.2 其他中枢兴奋剂

结构和作用相似的苯丙胺类、哌甲酯（利他林）和苯丙醇胺，是常加入到许多咳嗽和感冒制剂中的兴奋性血管收缩药，也要介绍一下。已在烟草中发现的尼古丁是最有隐伏的、最危险的兴奋剂，在这里也简要地讨论一下。

3.3 可卡因

可卡因来自可可叶，自史前开始，由于可可叶具有兴奋作用，南美高地的居住者就已经在咀嚼可可叶了。16世纪西班牙征服者第一次在秘鲁的莫加帝国见到可可叶时，它还是被国王自己控制的交换品。这就是为什么咀嚼可可叶当时没有同烟草一起引入欧洲的原因。直到1860年，可卡因才从中提取出来作为药用。不过，这种强效兴奋剂一诞生，就在欧美文化中大量使用。可卡因是可口可乐的基本配方，在各种各样的半药用酏剂和补药中经常可以发现其单用或合用阿片类。可卡因推荐用途有治疗哮喘、枯草热（花粉病）、乏力和至少一打的轻微不适。西格蒙·弗洛伊德自己及行医时就经常使用可卡因，是已发现的第一例医源性可卡因成瘾案例。严重的滥用者最常使用的方法是注射。可卡因经常与吗啡或海洛因一起注射，称为“加速球”。20世纪早期，美国可卡因滥用特别严重，以至于可卡因与海洛因一起被写入1914年的哈利生麻醉剂法案。

现今，可卡因以几种形式出现：可可叶、液体制剂、盐酸可卡因粉末、纯化的游离碱和粗制品，可以咀嚼、喷入或塞入鼻中、注射（合用或不合用阿片类）或吸入。

3.4 苯丙胺和哌甲酯

苯丙胺是20世纪开发的，最初于20世纪30年代成为临床药物，具有广泛的药用用途。第二次世界大战期间，苯丙胺大量提供给战争中的军队和轰炸人员，因为他们不得不长时间保持清醒和警惕。战后，大多数参战国家仍然存有许多，人们很容易从医生那里开到处方，从抑郁症到大学生考前疲乏都有使用。苯丙胺第一次严重的滥用流行大暴发在日本和瑞典，在战争后期那里仍存有许多药丸。尽管美国存在滥用，但是战后第一次兴奋剂滥用流行大暴发是发生在1968～1969年的高剂量静脉注射去氧麻黄碱。

3.5 兴奋剂的药理作用

兴奋剂与阿片类模拟内源性吗啡（内啡肽）不同，而是直接与内啡肽作用位点结合。兴奋剂作用于拟交感神经，刺激脑内交感神经递质释放，发挥兴奋作用。这些交感神经药是通过收缩血管（缩血管作用）完成我们的“打或跑”的反应，它们能够加速脉搏和心率，升高体温（体温过高），一般能够提高警觉性和反应能力。这些能量药物也可以直接作用于脑内奖赏/快感中心，这样，兴奋剂使用者的满足感就被加强了。据一位在他的职业高峰期被推荐使用兴奋剂的职业球员说，服用兴奋剂后的感觉就和他身边整个球场都在呼喊他的名字的感觉是一样的。

3.6 尼古丁

烟草是尼古丁的原始来源，在前哥伦布美洲和后哥伦布美洲烟草为礼仪性使用。引入欧洲后，烟草作为一种消遣性药物既受到人们欢迎，又遭到人们诅咒。英格兰詹姆斯一世时，法庭曾判其有罪。今天仅在美国，烟草每年至少要为40万例死亡负责。与人们的认识相反的是，虽然尼古丁有助于集中精力，但是它干扰多项脑功能，包括干扰长期记忆和同时执行多任务的能力。

尼古丁和烟草中其他成分已被举证能引起各种致命的疾病。1991年，美国疾病控制与预防中心（CDC）一项研究列举了每年与吸烟相关死亡原因：心脏病（心血管疾病），150 000例；休克，26 000例；其他心血管疾病，24 000例；肺癌（癌症），112 000例；其他癌症，31 000例；慢性阻塞性肺病（非恶性肺病），62 000例；其他（包括肺炎和流感），21 000例；每年由烟草直接导致死亡总共有426 000例。CDC进一步指出，烟草也应该为每年受吸烟者环境影响死亡的53 000例非吸烟死亡者负责。

从药理作用来说，烟草耐受性一旦形成，发展很快，并在整个吸烟生涯保持一定水平。戒断症状很容易产生。

戒断症状各异，包括尼古丁成瘾性、兴奋、易怒、挫折感、愤怒、焦虑、抑郁、难于集中精力、坐立不安和食欲旺盛。虽然尼古丁戒断症状令人非常痛苦，可能持续数周，强迫再用感要持续相当长时间，体重可能下降，但是不会威胁生命。不过，解毒疗法能够减轻尼古丁逆向神经适应性的过程。

尼古丁虽然也可以通过咀嚼和鼻子嗅进入血流，但吸雪茄烟是最快速进入脑的途径。尼古丁也可以通过皮肤吸收，皮肤贴片使用方便。尼古丁也很容易从胃吸收，但是肝首过作用大大降低了从胃吸收进入脑的药量。因此现在建议使用尼古丁胶的患者用唾液温和胶在面颊内咀嚼，以

利于尼古丁胶通过口腔黏膜吸收。

产生欣快感的积极强化和快速产生戒断症状的消极影响支撑着烟草的使用。一旦尼古丁水平降低于脑内习惯水平就必须快速吸入尼古丁来迅速缓解戒断症状。

3.7 苯丙胺、甲基苯丙胺的作用

兴奋剂能促进脑内能量物质的释放。短期内能提高觉醒状态和警觉性，给偶尔或情势所迫的使用者一个完成任务的利刃。就是这个利刃使20世纪40年代后期的科学家赞美苯丙胺是一个了不起的药物。不幸的是，这些药也耗竭了可利用的能量物质，诱导药源性妄想狂，触发该药更强的药瘾。特别是可卡因，阻断脑细胞对能量物质的重吸收，持续引起神经连锁反应，直至这些能量物质被代谢。

3.8 预防行动

根据兴奋剂特性，可卡因和兴奋剂会快速产生滥用。预防行动的口号是“消灭兴奋剂”。摇滚歌手 Frank Zappa 在其出演的一个商业电视片中说：“伙计，如果你继续使用兴奋剂，很快就像你父母一样完蛋了。”

不过，事实证明，最有效的苯丙胺/去氧麻黄碱预防方法就是那些静脉注射毒品的使用者自己。这些人独立、个性散漫、相信药品消极广告。厌食症使他们骨瘦如柴，而兴奋性精神病把他们变成妄想的偏执狂的暴力牺牲品，于人于己都有害。

尽管预防行动在一定程度上有效，事实上，在20世纪60年代后期，不仅是非法制造的去氧麻黄碱，还有随后开发的精神作用药品都失控了，政府和厂商不得不对不断增长的药品滥用问题采取补救措施。

4. 致幻剂

阿片类和镇静催眠药的开发最初是为了缓解身体和精神的疼痛，但兴奋剂的开发就是为了消遣性和强化生理功能，而致幻剂的原始功能则是在宗教和魔幻领域发挥作用。无论是史前，还是人类历史，甚至当今社会，致幻剂一直都在使用。致幻剂使用时常常不同程度地掺杂文化内涵，从而关联到人的精神世界、神的领域或更深层次达到人的潜意识。沙门教僧经常在高度复杂的宗教仪式上使用植物或矿物的致幻剂，在他们的教徒与信仰的神之间建立接触点，或至少建立了一种影响他们个人和集体生活的超自然力量。

人类植物学家已经分出数百种植物致幻剂，主要来源于南美热带雨林。不过，本章主要集中于 Goodman 和 Gilman 分类的五大类致幻剂[7]：

- 麦角二乙胺（LSD）样药，如仙人球毒碱（麦司卡林）、二甲-4-羟色胺磷酸、二甲-4-羟色胺；
- 可能是麦角二乙胺样药，如 DMA、DOM（2,5-二甲氧-4-甲苯丙胺）和 DMT（二甲色胺）；
- 可能是麦角二乙胺样并有其他特性的药，如 MDMA、MDA（亚甲基二氧苯丙胺）和其他苯丙胺衍生物；
- 可能是非麦角二乙胺样药，如5-羟色胺酸；
- 非麦角二乙胺样药，如东莨菪碱和 δ-9-四氢大麻酚。

4.1 致幻剂的历史和性质

Goodman 和 Gilman 分类法明显是以麦角二乙胺（LSD）为基础划分致幻剂，LSD的中心地位主要可能与该药是最广泛讨论和最臭名昭著的致幻剂有关。

虽然 LSD 发现相对较晚，是1943年瑞士 Bazel Sandoz 实验室的一位化学家 Albert Hofmann 博士偶然吸入自己1938年首次合成的一种化合物后发现的，但是 LSD 最有活性成分——麦角胺作为精神药物却有相当长的历史。麦角胺是黑麦谷物自然生成的霉，在古代社会被赋予了神秘仙药特征。中世纪，忘了食用的面包被麦角胺污染，整个部落的居民因而致幻都被归咎于魔法和着魔。

19世纪，诗人和人类学家观察发现，各种不同文化的宗教仪式中都包含精神活性物质，西方科学界再次燃起对致幻剂的兴趣。仙人球毒碱是墨西哥和美国西南部宗教派别使用的仙人球的活性成分，1856年被分离出来，当时，像 Sigmund Frend、William James 和 Havelock Ellis 等就用它来研究致幻作用。不过，在 Hofmann 博士发现的这个活性最强的精神药物（LSD）后才引发人们对致幻作用的巨大科研兴趣和普遍关注。

随着 LSD 的利用，对这类药物的认识经历了一个模型演变过程。最早的模型是拟精神病模型。制备精神病模型用于药物实验，使研究者利用非精神病对象研究精神病症状。虽然没必要废弃精神病模型，但之后出现了致幻剂模型，用 LSD 和仙人球毒碱作为工具药，研究感觉的机制；还有治疗模型，使用这些药物治疗酗酒、其他成瘾性和精神健康问题。最后，出现迷幻剂模型，在特定条件下可以维持幻觉状态，是药物实验启发和产生意识膨胀的方法之一。就是随着这种迷幻剂模型的出现，LSD 和其他致幻剂的使用从实验室扩散到社会上。

4.2 急性和慢性作用

致幻剂的不良反应一般分为急性和慢性或称长期作用。急性作用通常指“恶性迷幻旅程”，是致幻剂摄入后直接出现负性结果，诸如令人恐怖的情景和想法、对环境失控的恐惧和对意识丧失的恐惧。

急性作用 1967年，David E. Smith，M. D. 主要根据精神病学特征，区分致幻剂引起的不良反应，把它们划分为急性毒性、药物作用或慢性后遗效应。服用致幻剂特别是 MDMA 后，虽然有某些生理性影响，但首先具有特异体质特征，大多数病例的不良反应仍然属精神疾病性质。

急性毒性反应表现为多种形式。通常患者清楚自己服用了致幻剂，当致幻剂开始发挥效力时，他们发现自己处于一种焦虑不安的状态之中。他们知道自己是吃了药，但是感觉不能控制药物的作用。这种情况与人们无法从恶梦中醒来的感觉相似。某些使用者像经历了一次恶性迷幻旅行，身体试图逃离这种环境，感觉躯体潜在的危险升高了。

另外一些人可能开始对同伴或其他人产生偏执妄想和怀疑。

并非所有急性毒性反应都是焦虑不安或感觉失控。有些服用致幻剂的人表现出认识能力改变和判断能力变弱。他们可能会认定他们能飞起来，能从窗户跳出去。据报道有些使用者已经走到海里去，他们感觉自己是宇宙中的一颗星星。在讽刺文学中，描述了这种不幸事件，“感觉自己成为神仙，却不幸被家具绊倒。”对严重绊倒的敏感性并不一定与剂量有关，但是依赖于使用者的阅历、成熟程度和个性，还有“内在和外在因素”（如幻觉发生时的状况和环境）。有时，中毒时和中毒后谈及其经历时，使用者会抱怨有不快的症状。不利的精神病内在影响和环境外在因素是导致产生恶性迷幻旅行的最重要因素[8]。

大多数急性毒性反应可以通过有效交谈进行治疗，而无须药物或住院。对致幻药有经验的专业人员在诸如大型摇滚中心等场所大有用武之地。通过交谈的方法，可以使人放松，适当的会谈语调可以使人精神舒缓。应避免快速运动，应使患者感觉舒服，但不能阻碍他们自由活动，让他们走走转转，或站或坐或躺下。有时候，这样的动作和行动足够缓解患者焦虑不安的反应。和善的建议可以帮助患者从那些似乎可能增加焦虑不安情绪的行动中转移注意力，让患者的思想丢掉恶性迷幻旅行带给他的令人害怕的元素，转移到积极的部分是交谈疗法成功的关键。

治疗急性中毒反应，了解致幻剂的致幻反应通常经历的不同时相是最有益的。口服摄入平均剂量 100～250 μg 的 LSD 后，患者将经历拟交感神经或者说是兴奋反应，包括心率和呼吸加速。这个时相的不良反应主要是致幻剂常规预期的安定作用。这种安定作用通常足够超过潜在的令人害怕的感觉。

从第一到第六小时，视觉幻景开始栩栩如生，可能发生令人害怕的事件。患者可能已忘记吃过药，如果急性期出现畸变幻觉，就会感觉这种作用将永远继续下去。提醒患者那些作用都是药物诱导的，建议舍弃某些想象，分散对那些可怕想象的注意力，都有助于驱散恐惧感。

后期阶段，豁达的洞察力和思想起支配作用。在此，不良经历通常最主要归因于反复发生不快想法和感觉不可抗拒冲击力。治疗专家通过鼓励和暗示形成新思想印迹是最有效的治疗方法。

治疗专家对致幻剂及其应用的态度是非常重要的。移情能力和自信是必不可少的。治疗专家的不安和害怕会被当事人以更强烈的方式觉察出来。与患者躯体的接触经常可以让其安心，但也可能被误解，实际上，治疗专家更多应依赖直觉而非成见。

Wesson 和 Smith 注意到药物治疗是必要的，应在谈话治疗失败后或作为谈话治疗的补充给予患者药物[9]。在第一相治疗期，口服镇静剂，如氯氮䓬（利眠宁）25mg 或地西泮（安定）10mg 能发挥重要的药理作用和疗效巩固作用。

在第二和第三时相期，可能发生中毒性精神病或严重地脱离现实，不能再与患者交流。如果患者开始进入这种状态就非常危险，应该立即使用抗精神病药。如果患者拒绝口服药物，行为失控，应该注射抗精神病药。现在经常选的药物是氟哌啶醇（Haldol）（每小时肌注 2.0～4.0mg）。不过，任何药物只能由专业人员给予。如果需要给予抗精神病药，通常需要住院治疗。不过，就在 Haight Ashoury 免费临床中心发现，最严重的迷幻旅程仅通过门诊谈话疗法就能控制。

一旦能够建立起融洽的医患关系并达到良好的语言沟通，一般没有必要进一步使用药物。偶尔也会碰到患者对以上治疗没反应，就必须送精神病院住院治疗。不过，这个决定要慎重考虑，因为转入医院本身可能恶化治疗作用。住院治疗只能作为最后的处理方案。

致幻药物慢性后遗效应 摄入中毒毒性物质可能会发生中毒反应或者在该物质代谢后仍持续很长时间。随着致幻剂的使用，已报道有 4 种慢性毒性反应：①延长的精神病反应；②抑郁，足以严重到威胁生命；③幻觉重现；④恶化已有精神类疾病。最近，《精神病诊断和统计手册》（第四版）列出第五种慢性毒性反应，致幻后感觉障碍（PHPD）。

某些经历过许多次致幻剂恶性幻觉的人，特别是那些经历过急性中毒反应的人，会出现严重的长期人格分裂。这些延续的精神病反应与精神分裂症反应相似，通常主要发生在已有精神障碍的人身上，如首先有前精神病或精神病个性。致幻剂诱导的人格破坏相当严重，并且会延续。相应的治疗经常需要抗精神病药物和精神康复医院住院治疗，出院后要门诊随诊。

在 Haight Ashbury 免费临床中心，已经注意到某些自己用药的患者使用苯丙胺引起致幻剂加速的精神创伤事件[10]。自己使用苯丙胺治疗常常导致苯丙胺滥用，随之引起海洛因、巴比妥或酒精滥用模式。因此，对于某些患者，LSD 和其他致幻剂诱导的慢性精神病问题导致多药滥用的复杂模式，需要更多的治疗办法。

幻觉重现 最普通的致幻剂慢性中毒反应是幻觉重现。幻觉重现就是最初中毒反应恢复到常态之后，再次一过性自发地出现某些致幻剂作用时的幻觉。出现这段常态时期是幻觉重现与延续精神病反应的不同之处。幻觉重现单次服用一种致幻药物就可能发生，但更常见是服用多种致幻药物之后。

幻觉重现是一种症状，而不是一个特定的疾病。它们也可能是由多种原因引起的，虽然从未服过致幻剂，但也发生幻觉重现。有些研究者认为，幻觉重现可能是由于体内潴留的剩余药物释放出来又进入脑引起的。众所周知，苯环利定及其类似的药物就是如此，但是像 LSD 这类致幻药还没有潴留或体内长期潴留的直接证据。

每月服用数次致幻剂的人服药数天或数周后，常常感觉视野周围有飞逝的闪光和延迟的后像。主动的长期的致幻剂服用者倾向于把这些作为致幻经历的一部分来接受，不愿意寻求药物或精神学家来治疗，通常把它们看成“游离的幻觉”。就是那些缺乏经验的使用者和那些认为这些景

Y

象与负面解释有关的人可能被它们搅得坐卧不宁，愿意寻求药物或精神病医生的帮助。虽然情绪反应幻觉重现一般与幻觉重现同时发生，但是持续焦虑或精神病暴发却发生在令人可怕的幻觉重现之后。还没有停用致幻剂一年以上再发生因使用致幻剂引起的幻觉重现的记录。

使用致幻剂的长期影响 致幻药物不良反应的长期研究结果已显示，不良反应发生率低，但是 LSD 使用有彻底致残的慢性后果。特别严重的后果是有关 PHPD。患者描述 PHPD 有持续的感觉障碍，据他们讲好像生活在水中的气泡里一样。他们也描述自己移动双手后能够看到光尾迹和手影像，他们经常说自己生活在紫雾中。服用其他有精神活性的药物如服用酒精和印度大麻可以加剧这种感觉障碍。不同于幻觉重现仅是个小插曲，PHPD 是长期的现象。患 PHPD 后，患者经常感觉焦虑，甚至恐慌，发展成恐惧症和抑郁症。对于 PHPD 患者，我们的经验表明，即使在使用致幻剂之前患者确实没有过精神病史，甚至在单剂量后就可能发生 PHPD。

更严重的是持续致幻剂反应。例如，LSD 促发的精神分裂反应或严重的抑郁障碍，患者几乎一直有精神病发作，必须住院医疗。对于持续精神病反应，需要给予抗精神病药，对于持续抑郁症反应，需要给予抗抑郁药。特别要注意，青少年身因使用致幻剂引起的抑郁反应可能导致严重的后果甚至自杀。

对于 PHPD，鼓励性心理咨询而不用药物的康复治疗通常非常有效，但康复可能要经过几个月的时间，那些感觉自己脑子发生了不可逆损伤，认为自己再不能正常视物的人，可能需要抗焦虑药用于治疗继发的焦虑和恐怖障碍。

其他相关的致幻剂滥用情况 以上提到的药情况各异，特别是五氯酚（PCP），作为一个使精神躯体分裂的药物，根据剂量不同可以是兴奋剂、抑郁剂或致幻剂。其他文献中有很多关于治疗和评价的讨论。只需说明的是，致幻剂的病因学和药理学是多样的，包括不同的症状和后遗症。

参 考 文 献

1. Inaba, D.; Cohen, W. Uppers, Downers, All Arounders; CNS Publications, Inc.: Ashland Oregon, 2000; 61－63.
2. Seymour, R.; Smith, D. Drugfree; Facts on File: New York, 1987.
3. Smith, D.; Seymour, R. The Clinician's Guide to Substance Abuse; McGraw Hill: New York, 2000.
4. Gold, M.; Herkov, M. The Pharmacology of Cocaine, Crack, and Other Stimulants. Principles of Addiction Medicine, Graham, A., Schultz, T., Wilford, B., Eds.; 2nd Ed.; American Society of Addiction Medicine: Chevy Chase Maryland, 1998; 137.
5. Juergens, S. M.; Cowley, D. The Pharmacology of Sedative-Hypnotics. Principles of Addiction Medicine, Graham, A., Schultz, T., Wilford, B., Eds.; 2nd Ed.; American Society of Addiction Medicine: Chevy Chase Maryland, 1998; 117.
6. Weil, A. The Natural Mind; Houghton Mifflin Company: Boston, 1972.
7. Goodman, L.; Gilman, A. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th Ed.; Macmillan: New York, 1990.
8. Smith, D.; Seymour, R. Dream Becomes Nightmare: Adverse Reactions to LSD. J. Psychoactive Drugs 1985, 17 (4), 297－303.
9. Wesson, D.; Smith, D. Psychedelics. Treatment Aspects of Drug Dependence; Schecter, A., Ed.; CRC Press: West Palm Beach, 1978.
10. Seymour, R.; Smith, D. The Psychedelic Resurgence: Treatment, Support, and Recovery Options; Hazelden: Center City, Minnesota, 1993.

（高东雁 宋浩亮 常 艳 译）

药物设计的基本原理和应用

Jacques H. Poupaert
Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium

引言

药物设计和发明技术近年来有了相当大的发展，但是这些技术朝着两个相反的方向发展。一方面，花费相当大的智力和财力来完成一系列推理性的工作，最终达到对有效的候选药物进行鉴定。其中一个就是被称为“根据结构进行药物设计”的方法。在千年转折之时，这种方法被认为是“推理性药物设计”发展的鼎盛阶段[1~4]。另一方面，由于自动化化学合成以及像机器人一样的生物化学所提供的潜力，使利用组合化学技术合成大量分子，其中包括大规模筛选技术（HTS）的诱惑力越来越大。通过组合化学技术寻找新的活性化合物的过程就像在干草堆中寻针一样。这一过程就其本身而言并不是不合理的，它可看成是运用Monte Carlo算法，这样就不难想象集中选择有效的候选药物必然会非常缓慢。21世纪面临的挑战将是协调这两种技术从而明显加快药物的寻找和临床前研究。为了能更有效地将专为药物设计的组合库转化为完全的或实质性的新化学实体（NCE），构建一个高度统一的高产量的药物寻找平台，而不需要通过新药试验（IND）产生先导化合物，是目前需要做的关键的一步。

基于结构的药物分子设计

制药工业一直以来依靠通过筛选-精选大量天然的或人工合成的化合物寻找以前未曾发现的具有所期望的生物活性的物质。传统上，优化一个先导化合物是通过合成的大量化学衍生物对一个化学结构（通常称为先导化合物）进行随机探索。过去的10年，由于花费高且效率低下，这一途径变得越来越不能令人满意，而随着有疗效的新化合物的寻找速度变慢、发现速率以及新药上市速率的减慢，使成本继续攀升。更为重要的是，还有许多重要的医疗需求，而通过基于筛选的研究方法不能找到可以令人接受的安全有效的药物。

几乎所有生物活性分子都是通过与“靶点”或“受体”分子的相互作用而起作用的，这一方式在所有的生物过程中都起关键作用。这一相互作用的最普遍的概念是，药物分子将自身插入目标蛋白质重要的功能性裂隙中，就好像一把钥匙插进锁中那样。然后，药物分子与这个部位结合，诱发或通常是抑制蛋白质的正常功能。这众所周知的“药物-靶点”方法成了发现药物寻找的另一种有趣途径。如果能预先确定适当的蛋白质靶点，同时对该目标蛋白质的结构有足够的了解，就完全有可能设计出一个能与其相互作用的理想药物的结构。这一方法被称为根据结构进行的药物分子设计[5~10]，从而可能消除效率低下的传统的药物寻找方式。

因此，科学家开发了一种探索分子靶点的三维结构的药物寻找方法（根据蛋白质结构进行的药物设计）（图1）。这一策略的核心是蛋白质的X射线晶体学，利用它能够确定靶蛋白质的三维原子结构以及与之结合的药物。这种新的药物设计方法是把可以对特定的靶蛋白质进行鉴别、纯化和修饰的基因工程技术与蛋白质X射线晶体学新方法结合起来[11~14]。这一方法也可以通过精细制作的软件使化学家们能在动力学和热力学基础上预测分子的结构。与生物技术工业相反，当今一些制药公司利用基因工程技术生产蛋白质，不是作为产品而是将其用作药物的靶点。基因工程技术可以帮助科学家鉴别针对特定治疗目的的分子靶点，生产出足够数量的靶蛋白质用于结构研究，以及通过修饰这些蛋白质探索靶蛋白质的结构与它的生理和病理功能之间的联系。迄今为止，X射线晶体学是能成功测定大分子蛋白质精确三维原子结构的唯一方法。这一方法的主要限制是进行X射线晶体学研究时需有结晶的靶蛋白质。当强大的X射线光束轰击单个蛋白质结晶时，X射线光束发生衍射，形成明确的衍射图。对衍射数据进行复杂的分析，包括大量数学计算。这些计算结果确定了靶蛋白的正确三维结构。这一信息为三维药物的设计提供了关键起始点。另外，当不能获得靶蛋白质的结晶时，二维核磁共振技术（2D NMR）或分子模型技术也可以提供有用的信息。

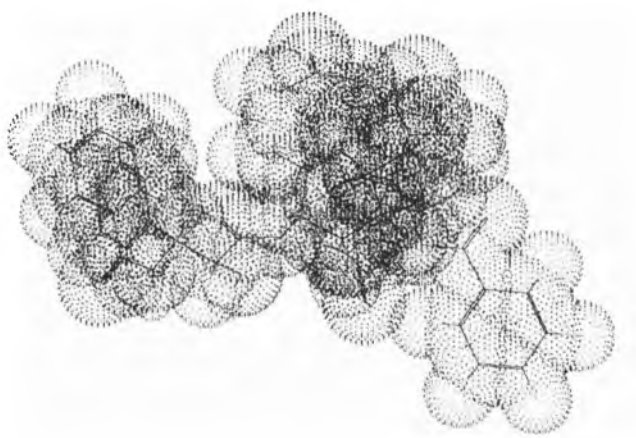


图1 药理活性分子（紫杉醇）的三维图为药物化学家提供了复杂的信息，从这些信息中推导出的药效基团可用以设计具有更好药动学和毒理学性质的类似物

药物化学家和晶体学家在确定靶蛋白的三维原子结构

Y

及其关键的功能区后开始进行药物的设计。药物设计者通过交互式图形工作站利用各种专业程序形成能与靶蛋白质的独特结构和电子环境互补的药物分子概念。然后，药物化学家合成最有希望的候选药物结构。像传统药物寻找策略一样，生物化学家测定新合成的候选药物对靶蛋白产生所期望的效果的能力。晶体学家重新测定已经与候选药物分子结合的蛋白质靶点的结构。候选药物分子已包含在大分子的活性部位内。他们可以看到真正由候选药物的相应部位引起的在结构上的相互作用。科学家把这种化合物经传统的生物化学或药理学技术测定后的结果与靶点在结构上的相互作用联系起来，就像X射线晶体学所揭示的那样。然后设计小组把这一分析结果融合到下一代化合物的设计中去。这个过程就是药物设计的方法学，它由模拟、设计、合成、结构和生物效果评价及重新设计等反复循环组成。方法学的效果取决于药物设计者对药物作用过程中重要现象的洞察能力，即能把药物与靶点的相互作用看成它们真正发生的那样，并且通过这些相互作用的细节指导药物的设计和优化。

药物设计和化学结构的多样化

20世纪90年代，把一个新的药物实体推上市场的平均费用估计超过3亿美元。在这些花费中，近1/3投入到对先导化合物结构的发现和优化。在公司档案中可以发现每个先导化合物最终都是起源于几个化学家的劳动。他们的劳动包括天然化合物的合成或分离以及鉴定。对于单个先导化合物而言，制备这些化合物的费用是非常大的。据估计，在传统制药工业的范例中，如果他们各自以系列的方式合成分子，合成每个新分子的费用在5000～10 000美元。很显然，在药物开发的早期阶段降低费用是有可能的，即在寻找新的先导化合物结构的时候（图2）。

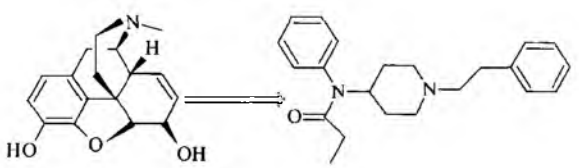


图2 利用经典的药物设计方法将复杂的吗啡结构（左）修饰为简单的非手性吗啡类似物——芬太尼，差不多花了150多年的时间

目前，主要通过推理设计和（或）大规模筛选来确定先导化合物。过去，通过常规大规模筛选确定新的先导化合物还是比较成功的。近年来随着高通量筛选技术和自动筛选技术的引进，利用大量靶点每年对成百上千的单个化合物进行筛选已成为可能。巨大的化合物库的来源仍然存在严重的问题。用以进行大规模筛选的化合物库通常是由一些制药公司把历年来自己合成的化合物集中起来或把天然产物收集起来形成的。每个化合物库都有一定的局限性。历年来收集的化合物只包含了有限数量的不同形式的结构（例如，数千种甾体类、β-内酰胺类、苯二氮䓬类等）。虽然该库相当有用，但只代表了巨大可能性中的一小部分。天然产物的局限性在于所鉴别的先导化合物结构复杂，并且难以将这些化合物用药化方法修饰成具有治疗目的所要求的药动学和毒理学特性的有用药物（如紫杉醇）。

过去10年出现了一个化合物的新来源，即通过快速化学合成或生物制备获得化合物库。这种新化合物的丰富资源加上对它们进行快速生物评价的能力，体现了用传统模式产生和优化新先导化合物的重要转变，这种情况不仅能出现在制药工业中，还出现在农业、材料和化学工业中。从10年前的初期到现在，分子结构多样化的化学制备领域发生了巨大的变化。早期的尝试绝大部分集中在利用固相技术和液相技术快速生成大量的多肽。这主要是由于天然氨基酸和非天然氨基酸很容易得到以及以前开发了已经成熟的缩合方法。应用这种方法现在能够快速制备数十万到数百万大小的多肽，用于鉴别新的先导化合物，或者通过制备和评价大量的多肽类似物来帮助解释配体-受体相互作用的化学基础。然而，新的趋势是集中在制备非肽类、低相对分子质量化合物（通常称为肽拟似物）。为了在合成多样化的化学分子时减少时间和费用，科学家利用组合化学技术制造出大量分子（化学库），并能同时进行大规模的有效的筛选。通过生产更大、更多样化的化合物库，制药公司希望能够增加发现具有显著疗效和商业价值的新化合物的概率。该领域描绘了化学和生物学的结合，这种结合由于微型化、自动化和生物技术的发展等重大进展而成为可能[15～17]。

与传统药物设计一样，组合化学也依赖于有机合成方法学的进步。然而二者的区别在于范围：组合化学不是合成单一化合物，而是探索利用自动化和微型化技术合成大量的化合物（图3），然后科学家只需直接在这些化合物中寻找活性成分即可。因此，组合有机合成（COS）不是随机的而是系统性的和可重复的，它利用多组化学“合成块”形成一结构多样化的分子实体。科学家们研究出几种不同的COS策略，其基本哲理相同，即通过化合物的空间编码或系统地连续合成和生物评价（反卷积法）寻找如何能从大量化合物中确定活性化合物的方法。

三种常用的COS方法值得重视。在有序的空间定位合成中，合成块在各自的作用点或部位系统地进行反应，形成独立的“互不相关的分子”。活性化合物通过其在网格中的位置被鉴定。第二种技术，即所谓的编码混合合成，利用核苷酸、多肽或其他类型更惰性的化学片段去鉴定每一个化合物。第三种方法反卷积法，即以组合方式合成一系列混合物，每次合成都确定几个特定的结构特征。每个混合物都以混合物形式进行测定，追踪其活性最高的混合物。再进行新一轮的系统赋予其他的结构特征，直到足够数量的互不相关的分子结构被合成和筛选为止。例如，科学家在研究多肽时，可以利用反卷积法从几百万个可能的多肽中优化或确定最具活性的多肽顺序。

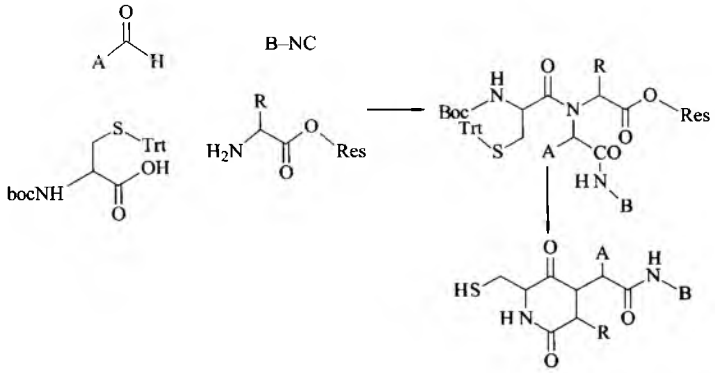


图 3 利用固相合成技术按预定计划建立分子结构的多功能组装的例子
(A 和 B 是可变的烷基或芳基；Boc＝苄氧羰基；Trt＝三苯甲基；Res＝树脂)

与传统药物设计一样，综合不同类型的化学、生物学和相关信息的能力对组合化学技术是非常关键的。组合化学同样也提供信息，即便是当前的信息系统处理起来也很困难。组合化学家还会以不同方式提出不同的问题，而他们的信息系统需要迅速找到答案。例如，化学家设计一个传统的合成，需要进行逆合成分析以决定最佳也许是最便宜的合成路线来获得目标化合物。同样，组合化学家也参考逆合成树状路线以建立组合资料。组合化学家需要快速的方法高效地获得反应信息。构建组合库最大的障碍之一是获得基本的合成组块以进行每个反应。能够快速检索有市售的反应物的化学信息系统，是一种非常有用的工具。

如果在整个过程中能确保药理评估的质量稳定一致，那么组合库一旦建立，就会产生前所未有的大量有用信息。必须建立每个化合物的反应过程。自动装置或其他实验室仪器需要长期的监察，由它们获得的数据将作为以后的参考。科学家必须把筛选结果和生物学数据与结构信息综合起来。像单分子的档案资料一样，组合库的档案资料及其相应的数据对研究和开发的成本影响很大。

组合化学是一个有前途的新领域，是化学工业的重大变革，它需要一套全新的科学信息处理方法。组合化学家如果能够迅速找到设计组合库的办法，构建能更好配合生物测定的组合库，并从过去的筛选结果中吸取经验，就能够达到目的。设计的组合库要有系统的排列和可以检索用建立的块收集所代表的广范围的分子主题。为了帮助药物化学家进一步细分先导化合物，在每一个主题库中要有系统的、各色各样的化学性质分类。如果利用计算机软件把合成化学库的设计、构建、筛选和解释和谐地结合起来，组合化学将会减少新分子实体上市所需的时间和费用。对组合化学库进行正确的管理，需要利用软件。应用这种软件处理由组合化学程序产生的化学和生物学数据时要懂得组合化学背后的科学知识[18~22]。

高通量有机合成（HTOS）和高通量筛选（HTS）

药学界在测定与新分子靶点相互作用的新化合物和为寻找新的治疗药物及产品路线铺平道路所做的尝试在过去的 10 年中经历了巨大的转变。这种冲击最明显的是在生物学领域，因为检测方法达到微量级，同时自动化使样品能够进行多重筛选，这在几年前还是无法想象的。HTS 诞生并迅速被采纳作为为了商业开发寻找先导化合物所需的初“筛”的重要方法，即便它不是唯一的方法[23~26]。以 HTS 为中心的重要性和永久性表现在大多数公司的组织结构中。这种组织结构几乎是固定的，只有当经济原因超过业务和将来的需要时才稍加改变。HTS 就是这样一种事物。新药的寻找已经从紧密的化学家-生物学家关系，转变为复杂的多学科单元，它在工业界形成了一个新的专业。化合物管理有了独立的、新的地位，而一些较大的企业成立了化合物管理部门。它控制了 HTS 所需的素材，基本掌握了成功实现新药寻找计划的关键。

HTS 是否能成功地揭露一个新受体位点的各种未知参数，依赖于其能否收集到大量具有各种不同功能团的化合物，这些功能团要分散在各色各样的化学结构框架的三维空间中。单个公司的档案很少能达到这种多样化的水平。大多数合作收集的公司其开发化合物主要依靠获得外界资源。最初主要从全世界范围内的大学和研究所获得。这些资源的不完整性孵化出一些小企业、化合物经纪人，他们在化合物收集和销售中充当“填平补齐”和数据加工的角色。对企业来说，利用这些经纪人在经济上是比较合适的，从而避免了去搜索许多大学的必要性和费用。这样做虽然比机构内部自己合成要节省很多，但是为了使化合物的数量接近适当的多样化所需的数目，又需要很大的投资。据估计，每个样品平均要花费 50 美元，十万个化合物的总花费要五百万美元，再加上管理、储存和维护费用。虽然购买大量化合物时可以通过严格的谈判来降低费用，采购时最好要预先固定在微板上的化合物。大多数 HTS 测定只需微量样品（$<10\mu g$），因此微板化合物的方法对小公司特别有吸引力，因为小公司要想收集大量化合物在购买和管理费用上很难做到。

所有这些外来资源都主要依靠大学作为主要来源。不幸的是，过去 10 年中这种做法耗尽了 50 多年来积累起来

Y

的大学资源。此外，要从目前的学术研究来获得足够数量化合物的可能性越来越小，因为现代化学技术和仪器已经可以研究微克级的样品。这一情况在天然产物领域尤其明显，所以天然产物由于它固有而独特的结构多样性使其变得非常珍贵。不过，在强劲的市场需求刺激下，涌现出许多使用传统化学技术的合成企业，专门为筛选市场制备化合物。有些企业由于采用了模块合成方法，大大提高了化合物的产量。这些资源有助于填补化合物数量上的不足，但是对提高结构多样化水平或降低费用收效甚微。

化学家已直接致力于样品来源的问题。第一个途径就是通过组合化学利用固相和液相技术合成大量的多肽。许多研究新药的企业利用企业内部的组合化学程序，去探索多肽以补充筛选资源。但是，近来更多的是利用相同技术进行常规有机合成的自动化，因为受到多肽骨架的限制以及其灵活性不能满足寻找新活性化合物时所需的更广泛的化学结构的需求（图 4）。这种方法的成功产生了一个新的化学学科——HTOS，许多企业已把它作为核心技术来应用，并且再一次涌现出一批新企业。学术界的研究项目也有这种需求，因为 HTOS 具有提供多样化化学结构的巨大潜力，并且在 HTOS 方法的运行过程中通过生物测定网络追踪成千上万的化合物所需的各种技术对智力也提出了挑战。一些新兴企业出现在这个特殊的竞技场上。他们利用化学创新和为客户制定合成策略提供进入大化合物的通道。其中也包括对客户有特殊兴趣的内容。这些对市场和新药寻找的影响非常显著。

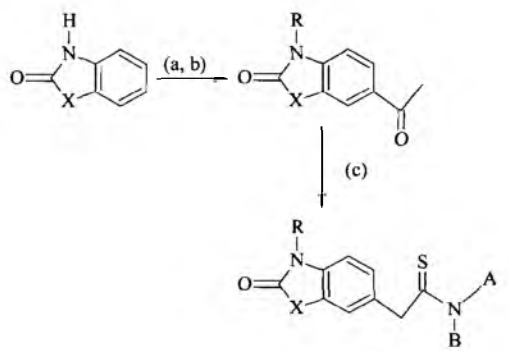


图 4 利用一锅煮反应方法三步合成一系列复杂的肽拟似物的例子。一锅煮反应可以快速平行地进行合成：(a) 乙酸、聚磷酸，85℃；(b) RI，DMF，无水碳酸钾，室温；(c) Willgerodt-Kindler 反应（硫磺，仲胺 HNAB，DMF，110℃）

不管近年来 HTOS 激动人心的发展进步以及杰出研究者对这个领域的贡献，HTOS 不能单独为筛选提供多样化和持续不断的化合物。现在的技术能够实现平行合成的只是一些通过经典的标准技术能便宜地获得的骨架和功能团。在这种情况下要求充分多样化是提供了 HTOS 的范围，因为迄今为止已开发的只是功能团而不是骨架化学。因此，天然产物依然保持其主导地位。当一个公司在提高其化合物资源的化学结构多样化方面的努力尚有限的时候，HTOS 对新药研发的经济影响就非常显著，因为它可以把缩短新药研发时间转化为延长有效专利期，从这里可以感觉到 HTOS 的力量和强大的影响力。

在传统的框架中，从先导化合物发展成实际产品是一个逐步发展的过程。第一阶段是根据有机合成的局限性和起始材料的可获得性评估合成的可能性，推断优先确定的首选特征，构效关系（SAR）的信息以及计算机分析的指南。这一步骤没有改变。下一步是在为靶系列化合物设计的化学结构范围内有序地计划好合成方案，把合成与初筛和复筛所反馈的信息结合起来在时间流程上做出整体安排，然后进一步对合成的靶结构进行优化。根据化学的复杂程度，每个化学家每年平均能够制备 100 个初始先导化合物的类似物。根据传统模式，管理人员要根据下述情况确定一个研究项目所需雇佣的化学家的数量：研发项目的重要性，合成的复杂性，以及打算申请专利的范围。但首要目标还是对市场潜力的审慎评估，一旦证明其是有价值的，就从中选出有希望的候选物做进一步研究使之成为能投放市场的产品。随后的步骤就是投入大量资金进行毒理学和临床研究。因此，这种选择阶段的做法对公司的成功至关重要，而对一些小企业来说，就可能意味着在经济上不能胜任。在传统模式的新药寻找中选择候选化合物的合理时间是 1～2 年。其制约因素通常是在初期合成阶段和探索与 SAR 有关的众多参数。随着 HTOS 设计原理以及自动化有机合成的应用，大大地缩短了这一时间。1～2 年的候选化合物选择时间可缩短多达 75%。这可以使专利有效期延长好几个月。

很明显 HTOS 已成为化学技术的一个新篇章。它进一步的发展是解决在半微量和亚微量水平实现大批量化学合成。同时它也极大地冲击了配套企业的产品开发，因为它提出了新的目标，如液体操作、自动化和数据处理。这种重组效果必然会对有机化学家提出新的挑战，对多学科交叉的依赖性会更大，并对研发部门内部的组织结构提出挑战。它同时对科学和工程提出新的要求，也为新产品开发创造了机会，这对配套企业来说至关重要。组合化学已广泛应用于新药的寻找和先导化合物的结构优化。对组合化学库质量的要求明显提高，如结构多样化、新颖性、纯度、与医学的相关性和容易合成。然而，由于使用市售的商业试剂和标准的化学方法，今天大部分的组合化学库的新颖性还不够。在不久的将来，为达到化学结构多样化的目标，有必要生产真正新的高质量、高附加值的化合物库。这些化合物库具有大量药效基团的合成块和骨架，具有广泛的分子性质和化学功能团。

DNA、功能性基因组学、药理基因组学和毒理基因组学

过去的几年，我们已经看到从人体和其他生物体模型获得基因水平 DNA 序列的信息显著增加。新技术与这种信息相结合从根本上改变了生物学研究的方式。毒理基因组

学是一门新的亚学科，它把新近出现的基因组学和生物信息学新技术结合起来，用来鉴定和描述已知和可疑毒物的作用机制。目前，毒理基因组学的主要工具是 DNA 微阵列和 DNA 芯片，用来同时监测数百到数千基因水平的表达[27~30]。

阵列是有次序的样品排列，能够根据碱基配对原理对已知和未知 DNA 样品进行比较，还可用自动化方法鉴别未知 DNA 样品。阵列实验可利用普通的测定系统，如微板或标准转印膜，并且可以通过手工或自动进行点样。一般来说，阵列可分为大型阵列和微型阵列，二者的区别在于样品斑点的大小。大型阵列包含的样品斑点的大小为 300μm 左右或更大一些，很容易用现有的凝胶扫描仪和印迹扫描仪成像。典型的微型阵列的样品其斑点直径小于 200μm，而且这些阵列通常包含几千个样品点。微型阵列需要专门的自动化设备和成像设备，一般不能在市场上购得整套的系统。

DNA 微型阵列，或者 DNA 基因芯片，由高速自动化设备装配在玻璃或尼龙基质上，用已知的样品测定互补结合，因此可以用其对大量的基因表达和基因寻找进行平行研究。用一个 DNA 芯片做试验就能够为研究者同时提供数千个基因信息，极大地提高了处理量。为什么有些药物对某些患者比对其他人有效？为什么有些药物对某些患者有极强的毒性？药理基因组学可以认为是功能性基因组学和分子药理学的杂合体。药理基因组学的目的是为了发现患者对药物治疗的反应与其基因特性之间的联系。同样，毒理基因组学是功能性基因组学和分子毒理学的杂合体。

药理基因组学是用基因和基因组信息预测个体患者和患者群体对药物的反应。药理基因组学因它对医药学产生冲击，可以利用新建立的基因组诊断工具预测哪些药物对安全有效地治疗个体患者有最大成功的可能。最终，利用该项技术使药物处方可根据个体患者的基因组成而定制。药理基因组学还可能革新临床试验的设计和规划。通过鉴别哪些患者对被测药物有作用，并排除那些可能对药物有副作用风险的患者，药理基因组学就能够提高临床研究的成功率，降低研究所用的时间和费用。

定量结构-毒性关系（由定量构效关系 QSAR 衍生而来）的发展可以预测和帮助理解药物的毒性和代谢机制，已成为提高寻找新药候选物效率的另一个挑战。尽管 HTOS 技术和 HTS 技术已能越来越有效地确定新的先导化合物的结构和传达足够的新药效基团信息，但是通过这些技术不能直接获得没有毒性并具有治疗目的所需要的药动学性质的化合物。在这个研究阶段，传统的药物化学家的才能和专业技巧对整个过程的成功极为重要。对目前开发的 HTOS 技术和 HTS 技术的批评意见是为了提高未来候选药物的效力和选择性，采用了比较复杂的分子结构。这样不可避免地提高了化合物的相对分子质量和亲脂性，其结果使化合物的口服生物利用度（一个主要的药动学参数）必然会变得很低，甚至为零。因此，在发现原始的先导化合物后，仍有必要利用传统合成方式作为补充制备数克样品供毒理学和药动学性质的评价。在此背景下，虽然有些完全根据经验，但基础知识及其实践确实是起作用的。为了达到这个目的，对药物前体进行了大量研究。然而，这种方法可能再次增加了分子结构的复杂性，因而增大了相对分子质量。因此，必须开发能综合考虑各种问题的新方法，包括在早期阶段利用计算机专家系统考虑结构-毒性以及结构-代谢的相互关系。

这个涉及许多技术和学科的领域的迅速发展，向人们提出了人员的基础教育和培训的问题。虽然学术界和工业界的关系通常被视为在研究和技术上的合作，但也应重视通过学术界提供人力资源以满足企业的需求。在这一点上，大学所提供的培养博士的教育体系滞后于公司的技术发展。目前，应大力发展专业教育以填补这一缺口。此外，为了发展可以应用于 HOTS 技术的新反应，制药工业对有机化学的基础研究提出了更多的要求。

结论

社会和政府对便宜且更好的药物的需求日益增加，面对这一问题制药企业开发了尖端的药物设计技术，包括 HTOS 技术和 HTS 技术，以减少药物研发所用的时间和费用。尽管这些技术还没有达到非常成熟的程度，但已极大地影响了公司的技术发展。然而，这些新方法本身并不能直接提供新的候选药物，因此作为补充方案，传统药物化学对调动候选药物的开发依然很有必要。所以，目前的药物设计是一个现代技术和经典科学的混合体。创制一个混合体本来就是一门艺术。可以预计，在未来的世纪中药物设计将在这两种趋势中演化，即一种以人类为中心的科学和艺术的混合体。

参考文献

1. Parrill, A. L., Rami, Reddy, M., Eds. Rational Drug Design. Novel Methodology and Practical Applications. Oxford University Press: New York, 1999.
2. Bugg, C. E.; Carson, W. M.; Montgomery, J. A. Drugs by Design. Sci. Am. 1993, 269, 92－98.
3. Truhlar, D. G., Howe, W. J., Hopfinger, A. J., Blaney, J., Eds. Rational Drug Design, Springer: New York, 1999.
4. Wupong, S., Ed. Biopharmaceutical Drug Design and Development; Humana Press, Inc.: Totowa, New York, USA, 1999.
5. Salemme, F. R.; Spurlino, J.; Bone, R. Serendipity Meets Precision: The Integration of Structure-Based Drug Design and Combinatorial Chemistry for Efficient Drug Discovery. Structure London, 1997, 5 (3), 319－324.
6. Bone, R.; Salemme, F. R. The Integration of Structure-Based Design and Directed Combinatorial Chemistry for New Pharmaceutical Discovery. Structure-Based Drug

Y

Design; Veerapandian, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 525—539.

7. Babu, Y. S.; Ealick, S. E.; Guida, W. C.; Erion, M. D.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A.; Carson, M.; Narayana, S. V. L.; Cook, W. J.; Bugg, C. E. (1997) Design of Purine Nucleoside Phosphorylase Inhibitors. Structure Based Drug Design; Veerapandian, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 151—169, Ch. 5.
8. Graybill, T. L.; Agrafiotis, D. K.; Bone, R.; Illig, C. R.; Jaeger, E. P.; Locke, K. T.; Lu, T.; Salvino, J. M.; Soll, R. M.; et al. Enhancing the Drug Discovery Process by Integration of High-Throughput Chemistry and Structure-Based Drug Design. Mol. Diversity Comb. Chem.: Libr. Drug Discovery Conf. 1996, 16—27.
9. Illig, C.; Eisennagel, S.; Bone, R.; Radzicka, A.; Murphy, L.; Randle, T.; Spurlino, J.; Jaeger, E.; Salemme, F. R.; Soll, R. M. Expanding the Envelope of Structure-Based Drug Design Using Chemical Libraries: Application to Small-Molecule Inhibitors of Thrombin. Med. Chem. Res. 1998, 8 (4/5), 244—260.
10. Spurlino, J. C. Structural Implications in the Design of Matrix-Metalloproteinase Inhibitors. Structure-Based Drug Design; Veerapandian, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 171—189.
11. Bossart-Whitaker, P.; Carson, M.; Babu, Y. S.; Smith, C. D.; Laver, W. G.; Air, G. M. Three-Dimensional Structure of Influenza A N9 Neuraminidase and its Complex with the Inhibitor 2-Deoxy 2, 3-Dehydro-N-Acetyl Neuraminic Acid. J. Mol. Biol. 1993, 232, 1069—1083.
12. Carson, M.; Ribbons Macromolecular Crystallography. Methods in Enzymology; Sweet, R. M., Carter, C. W., Eds.; Academic Press: New York, 1997; 277, 493—505.
13. Bone, R.; Lu, T.; Illig, C. R.; Soll, R. M.; Spurlino, J. C. Structural Analysis of Thrombin Complexed with Potent Inhibitors Incorporating a Phenyl Group as a Peptide Mimetic and Aminopyridines as Guanidine Substitutes. J. Med. Chem. 1998, 41 (12), 2068—2075.
14. Lu, T.; Tomczuk, B.; Illig, C. R.; Bone, R.; Murphy, L.; Spurlino, J.; Salemme, F. R.; Soll, R. M. In Vitro Evaluation and Crystallographic Analysis of a New Class of Selective, Non-Amide-Based Thrombin Inhibitors. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8 (13), 1595—1600.
15. Houghten, R. A.; Pinilla, C.; Appel, J. R.; Blondelle, S. E.; Dooley, C. T.; Eichler, J.; Nefzi, A.; Ostresh, J. M. Mixture-Based Synthetic Combinatorial Libraries. J. Med. Chem. 1999, 42, 3743—3778.
16. Sofia, M. J.; Allanson, N.; Hatzenbuhler, N. T.; Rakesh, J.; Kakarla, R.; Kogan, N.; Liang, R.; Liu, D.; Silva, D. J.; Wang, H.; Gange, D.; Anderson, J.; Chen, A.; Chi, F.; Dulina, R.; Huang, B.; Kamau, M.; Wang, C.; Baizman, E.; Branstrom, A.; Bristol, N.; Goldman, R.; Kiho, H.; Longley, C.; Midha, S.; Axelrod, H. R. Discovery of Novel Disaccharide Antibacterial Agents Using a Combinatorial Library Approach. J. Med. Chem. 1999, 42, 3193—3198.
17. Dolle, R. E.; Nelson, K. H., Jr. Comprehensive Survey of Combinatorial Library Synthesis. J. Comb. Chem. 1999, 1, 235—282.
18. Agrafiotis, D. K.; Yslik, J. C.; Alemme, F. R. Advances in Diversity Profiling and Combinatorial Series Design. Mol. Diversity 1999, 4 (1), 1—22.
19. Agrafiotis, D. K. On the Use of Information Theory for Assessing Molecular Diversity. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1997, 37 (3), 576—580.
20. Agrafiotis, D. K. Stochastic Algorithms for Maximizing Molecular Diversity. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1997, 37 (5), 841—851.
21. Dhanoa, D. S.; Soll, R. M.; Subasinghe, N.; Wu, Z.; Rinker, J.; Hoffman, J.; Eisennagel, S.; Graybill, T.; Bone, R.; Radzicka, A.; Murphy, L.; Salemme, F. R. Serine Proteases-Directed Small Molecule Probe Libraries. Med. Chem. Res. 1998, 8 (4/5), 187—205.
22. Hajduk, P. J.; Gerfin, T.; Boehlen, J.-M.; Häberli, M.; Fesik, S. W. High-Throughput Nuclear Magnetic Resonance-Based Screening. J. Med. Chem. 1999, 42, 2315—2317.
23. Andres, C. J.; Denhart, D. J.; Deshpande, M. S.; Gillman, K. W. Recent Advances in the Solid Phase Synthesis of Drug-Like Heterocyclic Small Molecules. Combinatorial Chem. & High Troughput Screening 1999, 2, 191—210.
24. Kuzniar, E. Inventory Management and Reagent Supply for Automated Chemistry. Combinatorial Chem. & High Troughput Screening 1999, 2, 239—247.
25. Glaser, V. Trends in Drug Discovery. Genetic Eng. News 1998, 18, 12.
26. Brush, M. High-Throughput Technology Picks Up Steam. The Scientist 1999, 13, 11.
27. Cho, R. J.; Campbell, M. J.; Winzeler, E. A.; Steinmetz, L.; Conway, Wodicka, L.; Wolfsberg, T. G.; Gabrielian, A. E.; Landsman, D.; Lockhart, D. J.; Davis, R. W. A Genome-Wide Transcriptional Analysis of the Mitotic Cell Cycle. Mol. Cell 1998, 2, 65—73.
28. Wolfsberg, T.; Gabrielian, A.; Campbell, M. J.; Cho, R.; Spouge, J.; Landsman, D. Candidate Regulatory Sequence Elements for Cell Cycle-Dependent Transcription in Saccharomyces Cerevisiae. Genome Research 1999, 9, 775—792.

29. Tavazoie, S.; Hughes, J. D.; Campbell, M. J.; Cho, R. J.; Church, G. M. Systematic Determination of Genetic Network Architecture. Nat. Genet. 1999, 22, 281—285.
30. Madej, T.; Boguski, M. S.; Bryant, S. H. Threading Analysis Suggests that the Obese Gene Product may be a Helical Cytokine. FEBS Lett. 1995, 373, 13—18.

（李 明 译）

Y

药物受体：在后基因时代的发现

Jeffrey M. Herz
Applied Receptor Sciences, Mill Creek, Washington, U. S. A.
William J. Thomsen
Arena Pharmaceuticals, San Diego, California, U. S. A.

引言

基于完整的人类基因组的阐明和基因组学研究方面的进展，以受体为基础的药物发现模式发生了转变，揭示了大量针对药物发现有潜力的新受体。根据大量受体的序列、结构和功能的相似性，这些受体能归类于相对较少的多基因超家族。分子生物学手段也揭示了一些受体亚类和亚型是通过多种机制产生的。目前面临的发展和应用方面的挑战是运用新的策略快速地发掘受体基因组序列从而建立和明确它们的功能，即“功能基因组学”。配体结合和解释孤儿受体表达的信号性质特性方面现存的问题和分析的方法需要认真评价。随之而来的孤儿受体的特性期望能揭示其以受体为靶点的治疗方面的重要性，并期望能作为大多数药物发现的平台。

这些发现将刺激新一代受体亚型特异性药物的发现和发展，并提高治疗方面的专一性。

受体的概念和定义

按 Voltaire 的话说，如果受体不存在，那药理学家就必须发明它们。事实上，J. N. Langley 在世纪之交提出了“接受物质”的存在，通过它，组织能选择性地识别激动剂和拮抗剂（如配体），重要的是，它还能提供这种识别活动转换为生理学反应的机制[1]。因此，一个基本且耐用的受体定义为“必须识别特殊的化学实体，并能将来自于该实体的信息转化为细胞能阅读的形式从而相应地改变其状态，例如膜渗透性产生变化或鸟嘌呤核苷酸调节蛋白或 DNA 转录发生改变”。因此，配体识别的属性和信号转导从根本上来说都是定义受体必需的。信号转导可能通过受体整体介导，也可能涉及受体和非受体蛋白间的相互作用。很多配体受体相互作用产生信号转导的特征是激活激酶区域，导致信号转导途径的磷酸化。

这个定义是对受体的功能和调节、在药物产生作用的机制方面的科学研究中的基础。然而，直到应用相对较新的现代生化和分子生物学来纯化、测序、克隆和表达纯受体蛋白，才最终证明受体的存在。尽管缺乏证明，很多现代或非现代药的治疗学基础都在于它们与靶细胞膜或细胞液中受体的特殊相互作用。事实上，这些特殊的相互作用提供了它们发现和发展的试验基础。

受体分类标准

1. 分子结构为首位

历史上，药理学家通过这样一个概念来分类受体，即一个受体介导一个内源性激动剂引起药理学反应，受体亚型主要通过药理性质来定义。受体次级分类系统依据有用的选择性和能选择性地引出或抑制受体的生化及生理反应的有活性的自然物质（毒素和生物碱类）或人造配体。有时，亚型能通过不同受体亚型的信号转导机制被区别开。这种方式能导致人们对很多药物分子和细胞作用机制的理解，促进其在治疗上的优势，但不能提供包含所有已知众多不同亚型受体家族的证据。

对于特定的神经递质或激素，直到应用了现代分子生物学技术才认识到巨大的分子差异性和受体亚型多样性的重要性。GPCR（G 蛋白偶联受体）是当前最大的受体超家族，据估计在人类基因组中超过 1000 个受体。在每个受体家族中，受体亚型的多样性大大超出了我们仅仅以药理学数据预计的数量。现在，很多受体基因的频繁克隆和重组蛋白编码的研究完全改变了原先的标准，这对于受体的分类来说是必需的，否则在药理学上不能被区别开，也不能提供在分子水平上对药物作用机制的深入了解。

由受体命名和药物分类委员会（NC-IUPHAR）提出的现行受体分类标准是以整合分子结构得来的信息、受体的药理学特性（运作和识别）、受体使用的信号转导机制为根据的[1]。在这三个基本原则中，受体的氨基酸序列对于不同的蛋白质，提供了决定性的鉴定标准，可作为分类的主要基础。内源性配体或多个配体的鉴定，提供了受体家族分类的第二种方法。对选择性激动剂、拮抗剂、异构体（调节配体）进行放射配体结合研究所得的药理学证据进行整合，进行功能分析（细胞内 cAMP、钙水平的改变或报告基因分析），提供了基于三种基本标准分类的综合性判断。

受体能根据与拮抗剂的亲和力进行可靠的细分，然而自从发现了细胞和组织相关的内在活性和效能后，由激动剂获得的数据就不那么有用了。受体-效应器机制反映了受体分子信号的性质，纵然新受体的转导机制可能不清楚并有争论，这种信息仍提供了受体分类的另一排列。此外，对于重组受体的研究异源细胞表达系统的使用，显示

了受体亚型在启动信号事件不常关联其生理学作用的潜力。这些研究也表明受体激活的最终应答是细胞类型特异性的。因此，在定义受体转导特性的时候将出现潜在的两面性，导致这些特性在分类标准中的价值受到限制。如何在受体分类和命名中合理计划整合受体结构信息、药理学特性和转导性质等问题，将是药理学家继续讨论的课题[2]。

2. 受体超家族、家族和亚型

大量从全序列基因组和克隆的受体蛋白中获得的氨基酸序列，经鉴定，大量受体类型有基本氨基酸和结构的相似性，具有不同的药理学特性。公认的受体基因通常包含可识别的氨基酸序列以表明可能编码的受体超家族。这种同源建模方法被广泛应用于寻找受体在胞外配体结合区域、跨膜区或胞内区典型的常见氨基酸序列。这使得基于序列相似性将受体分类成超家族为可能，它包括很多受体蛋白，药理功能不同，但结构和功能上相似，因为它们有着同一种分子信号转导机理。对于受体“同结构/同功能”的概念不是独特的，而是源于对相同远祖的基因的观察。超家族受体亚型的出现通常是因为基因复制和变迁引起的对同祖先受体基因的偏离，而不是基因的新构建。的确，同族成员在人体染色体上集中在相对较小的区域，高度同源受体的基因组成常能揭示由同样数量的蛋白编码的外显子组成的相同结构。对于许多 GPCR 超家族成员，全部蛋白有一个外显子编码。

尽管受体亚型的数目在增加，目前，有限数目的足以适应所有的信号转换受体的基本超家族结构已经被认可。例如，在 G 蛋白偶联受体超家族中，单一亚基受体的标记基序是包含 7 个明显的由 20～30 个氨基酸组成的疏水结构域，其通过长度各异的亲水氨基酸序列连接。如图 1 所示，人类生长抑素受体的 5 个亚型的氨基酸序列以单字母氨基酸代码的形式整齐的列出。被提及的 7 个跨膜的区域相对于受体总的序列而言，显示出高度的序列同源性。生物物理学和生物化学的研究已经显示，这些序列形成一束跨膜的 a 螺旋，含氨基的末端存在于细胞外的表面上，而羧基末端存在于膜的细胞质表面上。其他的比较小的结构基序担任 G 蛋白偶联受体的功能微观结构域。这些结构域已经被定点突变和缺失诱变研究、受体嵌合体的产生、通过抗体的使用、包括配体结合的关键序列，G 蛋白质的偶合和磷酸化作用所绘制成图（图 2）。所有的促进 G 蛋白偶联受体活化的信号通过与异源三聚体的 G 蛋白质的作用，功能性地触发各种细胞反应。其他的主要确认的超家族受体包括配体门控型离子通道受体（LGCR），酪氨酸激酶受体（RTK），受体蛋白质酪氨酸磷酸酶，肿瘤坏死因子（TNF）-神经生长因子（NGF）受体，TGF-b 丝氨酸-苏氨酸激酶受体和细胞核受体超家族。无疑地，随着一些不适用于现存的超家族框架的新受体序列被发现，以及它们的信号转导性质被确定，将会产生受体的新型超家族。受体是基于相对的序列同源性、运作和信号转导的机理而做进一步的再分类到受体家族和亚家族。通常采用的命名系统是参照其内源配基所命名的家族名称，如谷氨酸盐、5-羟色胺（5-HT）、多巴胺以及表皮生长因子。每个家族都典型地由多个受体亚型构成，这些受体亚型在分子生物学、药理学、生物化学以及生理学特征上存在共性。在一个受体家族内，同一亚科内成员间结构同源性（一般说来在 50%～80%）高于不同亚科成员间的结构同源性（<25%）。然而，目前的命名系统采用了几个值得关注的特殊处理，在配基-受体系统中，一个单一内源性配基担任属于两个不同超家族的受体的神经递质。因此，乙酰胆碱既是含 7 个跨膜区的 G 蛋白偶联受体即毒蕈碱乙酰胆碱受体的递质，也是与毒蕈碱乙酰胆碱受体毫无联系的多亚基配基门控离子通道受体即烟碱乙酰胆碱受体的递质。同样地，几个神经递质与属于不同的超家族受体相互作用。谷氨酸受体分为代谢型 GPCR 和离子移变型，后者包括 *N*-甲基-D-天（门）冬氨酸（NMDA），α-氨基羟甲基唑唑丙酸（AMPA）和红藻氨酸盐族（LGCR）。γ-氨基丁酸受体（GABA）分为 $GABA_B$（GPCR）和 $GABA_A$（LGCR），同样嘌呤能 P2（P2X 和 P2Y）受体也有亚型在两个超家族。所有的 5-羟色胺受体（5HT1-5 HT7）除 5-HT3 属于 LGCR 外其余都属于 GPCR 超家族[5,6]。

3. 多配体/多受体家族

被广泛认同的是，所有的超家族都有含一种受体亚基与不止一种的内源性配基相互作用的例子。受体结合和组织培养实验表明，一个结构上有关联的配基家族可能结合并激活一个单一受体。能激活一个或多个密切关联的受体的同源性配基家族的存在将“受体混乱”的重要挑战呈现给受体分类和药品/受体设计。新的认识开始流行，多种受体超家族中都存在的多配基受体家族表明经典药理学理论中一个受体一个配基不再站得住脚。

在 GPCR 超家族里面，CC 趋化因子受体的独特亚型由 CC 趋化因子配基结合并激活。确定趋化因子的结构和功能是极端困难的，尤其当细胞膜上包含一系列受体时。举例来说，大多数的趋化因子受体有超过一个高亲和的内源性激动剂，并且大多数的趋化因子与多个受体亚型结合。在 CC 趋化因子的受体家族的 11 个成员里，至少 5 个趋化因子亚型受体涉及与 CC 趋化因子（又称 b 趋化因子）结合：单核细胞趋化蛋白 MCP-1，单核细胞炎性蛋白 MIP-1α，和人趋化因子。基于数据研究表明，一个受体（CCR-1）和所有 3 个配基结合，另一受体（CCR-2）仅与 MCP-1 结合，而人趋化因子与 CCR-1、CCR-3 和 CCR-5 结合。通过观察 CXC-或 α-趋化因子家族和 5 个受体亚型也发现类似复杂的配基/受体混乱现象的存在。两个密切相关的中性粒细胞衍生的 CXC（IL-8）受体，CXCR-1（$IL8R_A$）和 CXCR-2（$IL8_B$），已经被克隆，它们的连接特征说明了观察到的其与中性粒细胞的结合。CXCR-1 受体与三个配基作用（IL-8、GCP-2 以及 NAP-2），众所周知，该三个配基也与 CXCR-2 结合。

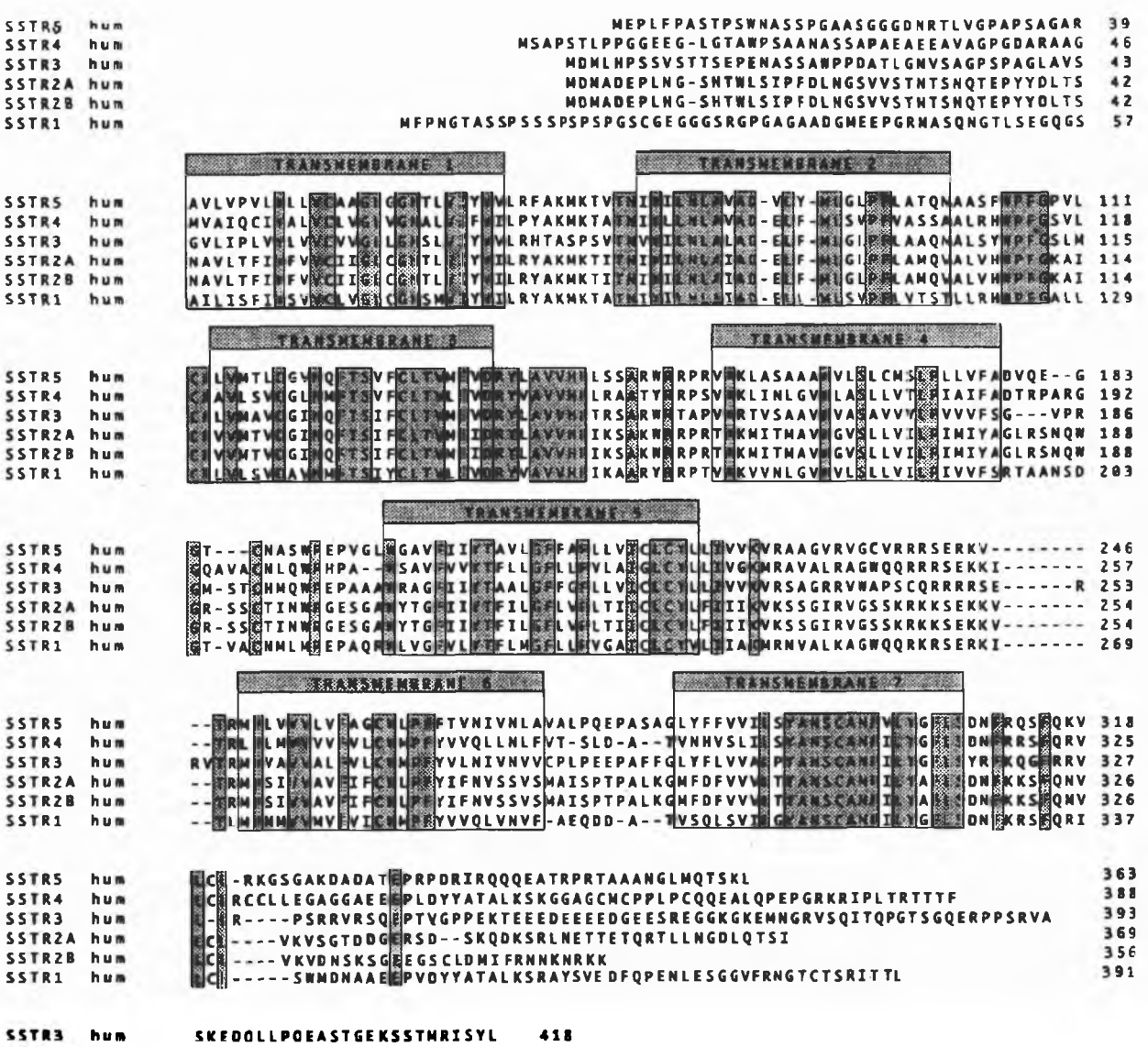


图 1　人类五个促生长抑素受体家族成员间的主要氨基酸序列的比较以单字母氨基酸代码排列氨基酸序列。为使排列优化，引入了空隙，并以短线（－）填充。方框内所标出的是亚型中有相同氨基酸的 5 个受体。最高水平的同源性发生在人生长抑素受体的 7 个经典跨膜区（如序列中所指），且这些区域已经被用来做疏水性分析以及与其他 GPCR 的跨膜区做比较。人生长抑素受体家族成员的 7 个跨膜区域的高度同源性同样也发生在其他受腺苷酸环化酶偶联抑制的 GPCR 上

骨形成蛋白（BMP）是 β 肿瘤生长因子超家族中的一员，其为说明多配体/多受体作用的另一例证。蛋白配体的 BMP 家族（成员）有不同的功能角色，包括骨和软骨形成，细胞增殖、凋亡、分化和形态发生。已经发现大量的形态形成蛋白，已发现了大量的 BMP，基于序列同源性，大部分的生长/分化因子（GDF）已经被列入到 BMP 家族，使该家族中配体数增加到大约 25 个之多。TGF-β、BMP-2 和 BMP-7 与 TGF-β 的受体丝氨酸-苏氨酸激酶超家族中潜在的高表达Ⅰ型和Ⅱ型受体的至少 6 个受体亚型相互作用。既要结合内源性多配基/多受体的相互作用，又要符合一细胞表面受体既可以作为另一细胞受体的配基而自身又是独立的受体这一事实，所以设计统一合理的命名方案的复杂性是肯定的。

4. 由组合亚基构成的受体亚型

现行的分类系统的中心宗旨是为每个由不同基因编码的单一多肽构成的受体的唯一受体亚型。例如，众所周知的多巴胺受体包含至少 5 个不同的亚型，多巴胺 D_1～D_5 受体，每个受体由独立基因所编码的一个亚基构成。出现在 LGCR 超家族中的多亚基低聚物受体是一个更为复杂的系统。像表/低聚体一样，已知存在的多亚基受体包含一些由彼此不同的亚型构成的亚基组合物。有几个家族，由同源

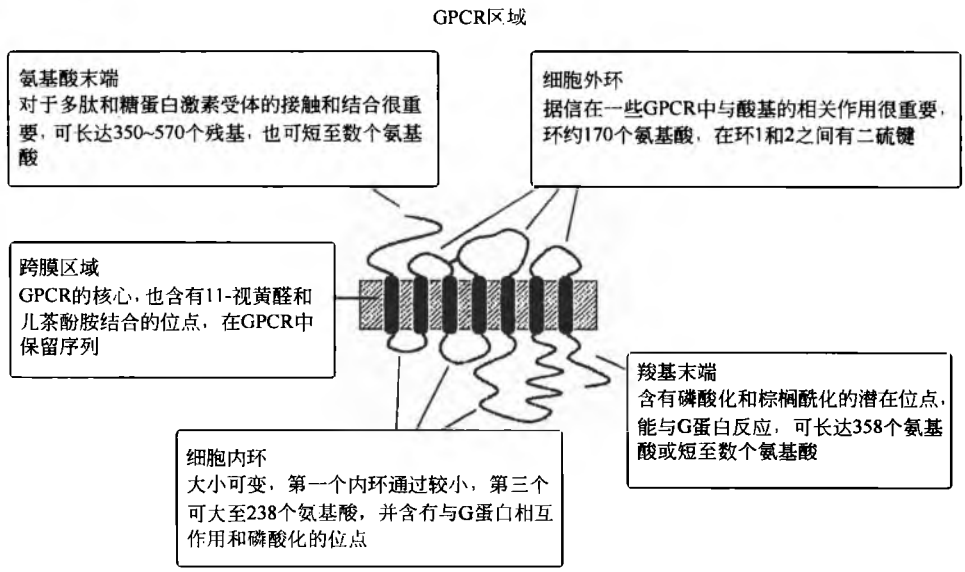


图 2 一个典型的 GPCR 的 7 个跨膜模型表现出了功能区域大约 175 个形成跨膜区域（由疏水性分析定义）的氨基酸残基的核在超家族成员之中高度地被保存。胞外和胞内的控制区以及羧基末端有更多分支，与相关受体关系密切。发现了氨基端可供糖基化的位点，而羧基末端显示棕榈酰化半胱氨酸。细胞内的残基关系到 GPCR 和与在胞内控制区发生间接脱敏作用的受体特效激酶的相互作用

基因编码的高度相关的受体亚基已经完成由希腊字母和数字相结合的标定。$GABA_A$ 受体的分子克隆研究已经识别 5 种不同亚基类型，分别命名为 α、β、γ、δ 和 ρ，它们彼此（30%～40%）以及与配基门控离子通道超家族的其他成员的重要氨基酸序列相同。几乎所有的这些亚基也都有许多不同的同工酶（α1 - 6，β1-4，γ1-3，δ 和 ρ1-2），并且每个同工酶家族内的所有序列有高度同源性（70%～ 80%相同）。通过亚基间的独立结合以及化学计量学以形成如 α2α3β3γ2、α1α3β2γ2 和 α1α3β2γ2 样的低聚复合物，个别的 $GABA_A$ 受体就如此被确定的。然而，已经使用一个交替系统使 *N*-甲基-D-天（门）冬氨酸、α-氨基羟甲基唑丙酸和红藻氨酸盐受体/离子通道复合物，NMDA1 和 NMDA2A-D、glu1-7 和 ka1-2 得以分类。受体装配的结合机制使产生大量的受体亚型成为可能，而且这也是包含 LGCR 超家族在内的多基因家族的一个普遍特征。

5. 受体亚型的多样性产生的分子机制

由于自然发生的变异的出现、等位基因的变种、RNA 剪接和编辑，受体序列的多样性在增加。举例来说，人类的多巴胺 D_4 受体亚型包含位于一假定的受体第三胞内环路上的 16 氨基酸同向重复片断。这种受体亚型的自然发生的等位突变体包括多种数目的直接重复单位（如 2、4、7 重复，多巴胺 $D_{4.2}$，$D_{4.4}$ 和 $D_{4.7}$），产生人体大量的受体变异，氨基酸一级序列不同，但对于多种配基的受体结合和信号转导药理学无明显的变化[7]。另一亚型变异发生在引起亚型受体长度变化的 RNA 剪接水平。例如，不同的剪接产生长短不同的多巴胺 D_2 受体亚型 D_{2L}（D_{2A}）和 D_{2S}（D_{2B}）[7]，而且产生有 29 个氨基酸差异的两个蛋白质。RNA 编辑是产生序列和功能多样化的另一机制，已经发现的红藻氨酸盐 GluR6 亚基的 7 个不同的编辑格式都有一个基因编码。许多受体受到像磷酸化作用这样的翻译后修饰，其调整受体的性质，不作为受体亚型定义的依据。

相同受体亚型的同系物种显示氨基酸序列的高度同源性，种间的序列同源性通常达到 85%～95%。这比通常在相同的物种不同受体亚型之间所发现的序列相似性高。克隆的引入使鉴别受体是否为同系物种成为可能，而根据种特异性药理学可能会定义为不同受体亚型，如同发现的大鼠 5-HT_{1B} 和人类 5-HT_{1B}（5$HT_{1D\beta}$）受体一例[8]。因为小到在结合位点的一个氨基酸的改变都能显著改变配基亲和力，所以一些受体同系物显示不同的药理学特性。一个值得注意的例子是比较非肽类拮抗配体 CP96345 和 RP67580 与人和大鼠神经激肽 NK_1 受体的结合。CP96345 以不寻常的亲和力与人 NL_1 受体结合，而与大鼠受体的亲和力低两个数量级，另外，RP67580 显示对大鼠受体有选择性。已知大鼠和人的受体的 95%是相同的，选择性强度的不同是值得注意的。重组体 NK_1 受体的单一残基置换的结构表明二个残基的交换足以颠倒二个配基的物种选择性。由于许多情况下，物种同系物不同于人类受体药理学特性，因此用于药物发现筛选程序的人类受体克隆的使用正受追捧。

6. 孤儿受体

假设受体经基因克隆识别与已知超家族种中已知受体显示同源性，但没有已经识别的已知配基则称为孤儿受体。最初，这些新奇的受体可能根据序列同源性的程度分类。

当孤儿受体的内源性配基未知时，受体根据与人造配基的结合情况而临时命名，直到发现其内源性配基。当孤儿受体的功能被揭示，这些新受体通常成为发展新治疗的靶标。

依赖受体构象情况的配体/受体相互作用

1. 静止、激活以及脱敏状态受体的配基亲和力不同

受体亚型分类的主要标准之一是药理学选择性如配体亲和性（平衡解离常数，K_d）和激活常数所定义的特征。由于（基因与配体）结合的数据克服了在研究生物反应中存在的许多内在的局限性，配基亲和力已经提供了一个定义和分类相关亚类型的切实可行的方法。然而，克隆受体的促进剂亲和力与天然细胞或组织的结合性亲和力的特征的精确比较很难实现。亲和力促进剂对在不同异源细胞类型中表达的重组受体起决定作用已经被广泛证实，这与天然细胞类型的特性有区别[9]。这些发现强调为了实现精确的药理学比较，需要比较在几个宿主细胞系中表达的重组受体与在一般宿主细胞中表达的相关受体亚型的配基亲和性和功能[10]。受体分类法在计算配基亲和性和功能的数据时需要考虑宿主细胞环境。

与传统的受体理论相反，从分子药理学角度分析，受体状态间的转换受具有特异激活受体的全谱配基与受体的相互作用诱导。这些配基诱导的状态间受体分子总体分布的变化支配着受体的结合和功能性质。如前面的详细讨论，体外和原位测量已经揭示配体门控性离子通道和 GPCR 超家族中特征性多相配体/受体相互作用的暂时回应的重要性。

一个激动剂，由于它包含的分子“信息”（如分子尺寸、3D 立体构型、电荷分布、氢键或离子键残基、手性）选择性结合到一个互补的三维表面，或由受体蛋白的氨基酸残基形成结合位点从而启动细胞反应。药物被分成能引发最大效应的全显效药和引发部分效应的部分显效药。不管显效药是一内源性生理配基、天然产物或者合成化合物，其与受体的结合会引起受体蛋白构象的变化分子转换成活性受体状态。例如，不管是完全的强活性或弱的部分活性，与烟碱乙酰胆碱受体的结合都引起向开路通道的转变，具有同一的气转导率是其特征。虽然受体开路状态的频率和持续时间不同，但这是受体单一活性构象的指示。受体激活作用的最简单图解可以这样表示，被活性物质（L）与受体（R）的结合导致受体发生产生促进剂/活化状态（LR*）的构象改变，其能引起一个作用或反应，可以表示为：

$$L+R \overset{K_d}{\rightleftharpoons} LR \overset{E}{\rightleftharpoons} LR^* \longrightarrow 反应$$

式中：L 代表激动剂；R 代表未结合（未激活的）受体；R* 代表受体激活状态；K_d 代表促进剂/受体结合的解离常数；E 为受体 LR 状态与 LR* 的平衡常数。

受体激活的当代模型日益企图合并多重构象状态的细节知识，包括脱敏受体状态。受体分子活化图解的一个基本观点是受体存在与三个状态间的动态平衡，一个非激活状态（R），一个活性构象（R*）和一个脱敏状态（R′），并且对给定配基的生物反应受其改变三个受体状态间平衡（或其相对优势结合）的能力所支配。将 LGCR 连续地暴露于促进剂，则引起一个向脱敏受体状态地多相转变，该转变在时间上持续 ms 到 s 不等。通常，GPCR 活化后紧随着应答丢失，也被称为脱敏，其后又是恢复期或再增敏。这些信号上的改变被牢固的调节，主要通过机理，包括快速 GPCR 磷酸化作用、将受体从细胞表面移去的细胞内摄作用以及降解或再循环到膜表面[11]。

许多功能类似于配体门控离子通道的受体能够通过两个状态（包含一个已脱敏状态）交替的受体脱敏作用的图解来描述，其最初是从广泛研究由配基结合诱导烟碱乙酰胆碱受体状态转变的动力学中推导出的[12]。该模型被延伸为一个普遍的配对/平衡模型，用于描述分子的类型以及激活剂和非竞争性抑制剂（非竞争性激活剂）对受体状态的影响[13]。如图 3 所示，模型结合了以下实情：乙酰胆碱受体包含了两个相互作用的激活剂作用位点和一个地形上相分离的结合位点用于活性中心外的非竞争性抑制。

对于许多受体来说，受体蛋白的活性作用位点可以在高亲和结合状态或受体构象与低亲和结合间变换。此外，激动剂对不同受体状态的相同位点的亲和性的不同可能是戏剧性的。就 LGCR 而言，脱敏状态显示更高的激动剂结合亲和力和非受体/介导的离子通透性。配基倾向于与已脱敏受体结合是向脱敏状态潜在转变的推动力。乙酰胆碱对烟碱乙酰胆碱受体的结合力（K_d）在平衡时测得是 10 nM（脱敏状态），比通过同一结合位点介导的通透性应答（可激活状态）的表观解离常数低 4～5 个数量级[14]。

多级激活剂/亲和性受体状态以及为许多 GPCR 家族所描述。GPCR 可能以或者高亲和力或者低亲和力与配基（K_H 和 K_L）结合，从脑组织或细胞系的天然膜中总结的规律看其差异可达 1000 倍。低亲和的受体激动剂典型地不能通过放射标记的激动剂直接结合地方法确定其状态，但可以通过引入放射标记过地拮抗物地方法进行测定和在宽的激动剂浓度范围内检验该竞争模式。对于重组体 GPCR，诱导的激动剂在亲和力上的变化依赖于重组体受体与存在于宿主细胞系的内源性 G 蛋白的有效配对，且配对高度依赖于受体与克隆细胞系的结合。例如，激动剂刺激三位多巴胺受体介导的效果甚微，而在 COS 或 CHO 细胞中，鸟嘌呤核苷酸上发现难以解释的活性配基的明显的亲和力改变[14]。然而，受体偶联以抑制腺苷酸环化酶对 D_2 受体超家族中密切程度高的亚型是容易实现的，重组的 D_2 和 D_4 受体在多种细胞系内表达（CHO-K1，HEK-293，C6-glioma，Ltk^-）[15,16]。

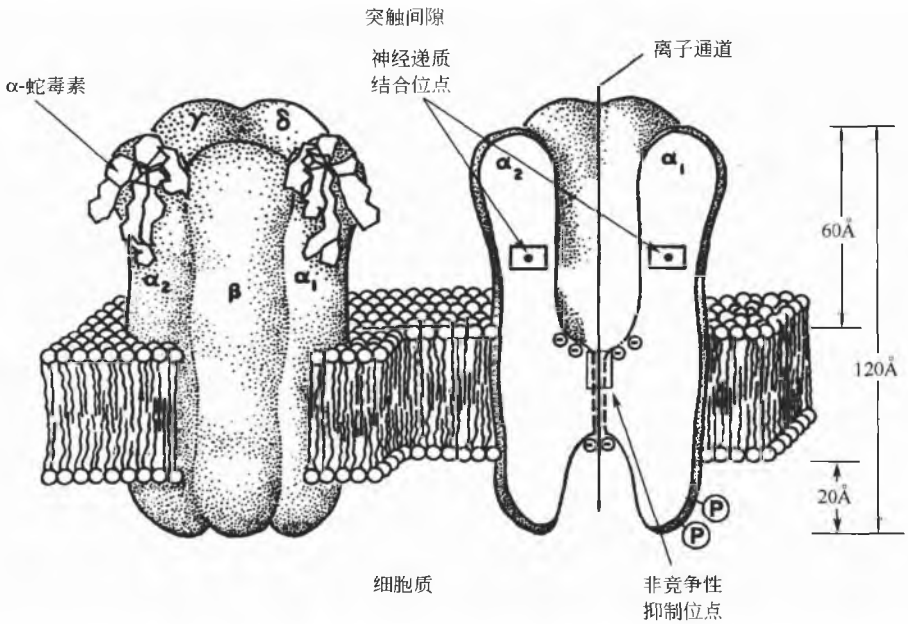


图 3　烟碱乙酰胆碱受体的肌肉亚型的结构和配基结合位点受体的二维晶体在水合氯醛中通过电子显微镜观察得到的结构。5 个亚基聚集形成跨越膜的，长约为 120Å、直径约为 70Å 的圆柱形。右边的受体显示的是一个轴向剖面，其上有阳离子转导通路。在突触边存在的直径为 60Å 的亲水性中心管道是跨膜离子通道的入口，该离子通道在与膜水平部位狭窄。目前对受体的分辨能力尚不能解决位于膜双分子层的离子通道的大小问题，而通透性研究已经揭示水性气孔的直径约为 7Å。通过荧光能量转移技术已经将配基结合位点在受体结构中的位置勾画出。两个激动剂结合位点，每个亚基上一个，与膜表面相距约 20～30Å，一个单一的别构偶联非竞争性抑制位点也位于通道上。两个 α-蛇毒素分子（7500kD 多肽，多肽的主体结构已显示）的位置位于所显示的左边受体的 α 亚基的突触表面

2. 对受体构象状态的拮抗调节

根据经典的药物/受体相互作用模型，全竞争性拮抗剂和激活剂都具有与受体分子同一位点结合的能力，不同在于拮抗剂缺乏内在活性。一竞争性拮抗剂占据了受体结合位点，却不能促使受体向活性构象转变。的确，在生物化学水平上，烟碱乙酰胆碱受体激动剂和拮抗剂（酰胆碱、管箭毒碱和 α-蛇毒素）在尺寸和结构上的区别已经在受体 α 亚基的同一分子位点上标记出，且它们的结合是相互排斥的。然而，最近的数据显示，如果竞争性配基以相互排斥的方式与仅存在于不同受体构象的不同结合位点结合，则用于与竞争性配基结合的位点必须是无重复的。竞争性拮抗剂可能至少被分成两类：① 中性拮抗剂，不显示对非活性或活性受体构象的选择性以及对基本受体活性无作用；② 阴性拮抗剂，又称为反相激动剂，其显示抑制不依赖激活剂的受体活性的特性且有负相内在活性。此外，负相拮抗剂不同于中性拮抗剂，其能一个不同的受体构象（状态）稳定。

对于 LGCR 和 GPCR，其活性都是受非活性和活性状态的分布所控制，阴性拮抗剂促进受体向非活性构象转变和稳定不同于未结合配基的受体状态（休眠状态）。对于 G 蛋白质配对受体，采用 Sf9 细胞中杆状病毒的表达系统研究高水平表达的受体或已经被结构性归类为定向诱变活性的受体的研究已经提供了一个实验系统，在该系统内，激动剂独立的、自发的腺苷酸环化酶能够测量。这一现象也是 β_2 肾上腺素能受体最好的特性，并且，在缓激肽，多巴胺 D_1 和 $5HT_{2C}$ 的受体上也已经被观察到，建议其可能是这一超家族的一个普遍特性。一群水井样特性的 β_2 肾上腺素能受体拮抗剂被发现不同程度的受体依赖性的抑制自发活性[17]。使用构成活性的突变体受体，阴性拮抗剂已经显示促进自然发生的受体/G 蛋白间的相互作用的解离。例如，配体 ICI118551 已经显示有抑制 β_2 肾上腺素能受体的基础信号活性，所以充当阴性拮抗剂的角色[18]。

反相激动剂也有活性跨距，因此，目前的配基和药物分类法承认完全激动剂、部分激动剂、中性拮抗剂、部分和完全反相激动剂。对于配基门控离子通道，烟碱乙酰胆碱受体与一系列的 *N*-取代癸烷双胺类似物的相互作用的药理学研究确定了几个化合物为拮抗剂，以前对于激动剂有作用的现对于拮抗受体有明显的作用。通过一个广泛系列的平衡和动态结合实验，显示拮抗剂优先结合到已脱敏的受体状态并且有能力促进烟碱乙酰胆碱受体向非活性状态转变。相反，经典的拮抗剂如管箭毒碱显示出对休眠和已脱敏的受体状态有相同的亲和力。对已脱敏做的受体状态显示提高了的亲和力的拮抗剂被命名为 metaphilic 拮抗。

Y

3. 非竞争性拮抗剂

非竞争性拮抗剂与空间上不同的作用位点作用，其可能受激动剂的别位控制而通过别为机理阻断受体功能。在激动剂缺失时，活性中心外常量 M 随受体结合而增加，而当活性中心存在时，激动剂引发向脱敏状态转变速率被加速了。对于 LGCR，活性中心外 NCI 配对位点是根本不同于药理学上的激动剂位点。一项关于苯基菲啶配体、乙啡啶与烟碱乙酰胆碱受体受体的高亲和 NCI 位点相互作用的研究表明与受 α-蛇毒素作用而处于稳定平衡的状态相比，乙啡啶与脱敏状态的结合有高度选择性，其比例大于 28 009[13]。相反地，乙啡啶结合在 NCI 位点上即其的占领使受体转向有更高的激动剂亲和力的状态。同样地，由于暂时地开通路状态，放射示踪的苯环己哌啶（PCP）结合到 NCI 位点地结合速率地增长相对于蛇毒稳定地受体状态达到 1000～10 000 倍[19]。对这些发现地可能地解释是结合位点位于跨膜离子通道内，在蛇毒稳定地受体构象是空间上难以接近而结合仅发生在有选择地构象状态（图 3），如开通路状态[20]在 LGCR 超家族中，很多的配基通过活性中心外机制调控受体。正如乙酰胆碱受体，药物如 MK-801 和 PCP 与 NMDA 受体在离子通道区域内结合，阻断激动剂依赖的激活作用。$GABA_A$ 受体的功能也受苯（并）二氮䓬类、巴比妥类和类固醇在受体活性中心外位点的结合所调控。

4. 实时研究药物/受体相互作用的方法

药物/受体相互作用可能在数量上不同于由激动剂结合而引起的快速转换的复杂的受体状态。然而，大多数研究普遍集中在假设稳态条件下分析配基/受体相互作用和细胞反应，采用构象状态瞬时感受器定量分析药物/受体相互作用的可用实验技术十分有限。由于许多受体控制胞内钙和蛋白激酶活性的快速而瞬时的变化的作用，对或者短暂或者持久的激动剂刺激的反应的强度和持续的时间将决定整体的细胞反应。因此，在决定一个细胞对外界刺激的反应时，药物对单个受体反应的瞬时整合作用是关键的。

分子药理学技术已经被用于配基/受体构象状态和细胞信号的快速、实时分析。许多种快速混合技术已经给出能定义由激动剂或药物结合到膜结合受体而引起的受体构象转变的灵敏、快速的测量能力。最早的配基受体动力学研究采用快速过滤法测定放射标记的激动剂配基结合和功能响应，但技术上受限于动力学的分辨率。时间间隔为毫秒的直接分光光度法测定已用于烟碱乙酰胆碱受体和甲酰基多肽（fMLP，GPCR）受体的构象转变，因为荧光标记的激动剂配基的结合受其与相应受体相互作用的显著影响[21]。荧光标记的甲酰化多肽配基与完整的人中性粒细胞的结合，分别采用荧光分光光度法和流式细胞计数法实时分析，得到了信号转导动力学和配基/受体-G-蛋白质四元复合物的模型[22]。通过报告子共价修饰受体的外部荧光标记也提供了 LGCR 和 GPCR 的构象改变的证据。将环境敏感荧光探针加入纯化的人 β_2 肾上腺受体，得到的分光光度信号可以提供激动剂和拮抗剂介导的受体构象变化的动力学信息[23]。

电生理分析药物与单受体配基门控离子通道和电压依从性通道的相互作用已经提供了另一种非常重要的途径以分析活化的 LGCR 开路通道状态和闭路状态以及与其他技术时间分辨不匹配的电压/活化离子通道。采用膜片钳方法，那些被附在膜小片或完整的细胞上的高电阻密封圈记录各自跨膜通道打开而产生的电阻的变化。这个性质的研究已经在定义受体/离子通道的许多亚型的功能型特征上有决定性作用，且有益于药物与受体开路通道状态相互作用的机理的研究，而这是其他方法难以实现的。在经典研究中，作用于烟碱乙酰胆碱受体的局部麻醉剂 QX-222 的通道闭锁机理是确定的[24]。当单一药物分子随机进入，阻滞和离开受体离子通道时，该通道的电阻发生快速而反复的变化。由此项测定而衍生出的动力学常数能够定义受体通道的状态-依从性闭锁。

流式细胞计量术已经作为一种有力的手段用于收集多参数动态数据以评价个体细胞中同时发生的多重的活性参数以及将这些参数与各细胞的配基占据相关联。采用这项技术能测量的细胞的功能参数包括胞内钙、镁、pH 和膜电位。功能参数的选择仅依赖于一个宽范围的能充当目标细胞参数的指针的特殊荧光探针是否可得和使用，现在，使用常规的荧光分光光度计，利用钙的荧光探针测量悬浮的细胞群或固化的单细胞层细胞内钙的持续变化。荧光数字成像显微术的联合使用，个体活细胞内离子浓度的空间梯度反射性变化已很直观。新仪器的使用已经能够将这一技术改进成适用于药物发现程序中的高通量筛选的高密度盘格式。

通过共焦荧光显微术的使用和受体/特定的荧光探针的发展，在信号转导时活细胞内受体空间和瞬时位置的确定的发展有了进步。受体荧光探针，尤其是，绿色荧光蛋白（GFP）已经成了一个普遍的，其允许激动剂介导的活动的实时测量。用绿色荧光蛋白标记的 GPCR 使对活细胞内 GPCR 运输的直接的实时显影成为可能[11]。所使用的手段已经证实产生包含 GFP 融合道受体羧基端的结构表达。超过 20 个不同的 GPCR/GFP 嵌合体的融合受体的合成和表达已经显示 GPCR 受体在胞内膜上的分布的快速变化和随后的配基和受体的细胞内摄作用。该分析为涉及控制 GPCR 功能的机理研究提供了关键知识点且使 GPCR 激动剂类药物的研究成为可能。然而基础的受体研究中采用荧光配基的仍然很少，随着增加的特定的荧光配基、重组体受体和仪器设备的增加，这一新生领域正在壮大。这些研究也确定了基于荧光的检测方法为药物发现程序中的超高通量筛选的优先模式。

受体亚型多样的功能性作用

分子克隆技术已经极大地拓宽了我们对受体亚型的认

识以及揭示了不同于以前设想的受体的极其不均一性。受体的高度同源性的多重亚型的发现激起了有关它们生理功能的重要性和它们作为独特的药物发现靶标的重要性的关键问题的调查。参照具有明显相同的内源性配基结合和信号转导特性的多重受体配基所表达的生物体，确定特殊的生理角色和优点的实际工作已经在实施。尽管有显示不能区分的结合和功能偶合性质的受体亚型的实例，那些密切相关的亚型和异型可能显示不同的性质，包括激活的时间过程、离子选择性、脱敏过程、调节和在偶合到不同第二信使的效能。此外，同一家族内的同源受体亚型通常显示不同地可控型表达，尤其在细胞类型和组织对特殊刺激相应时。

1. 产生多样性的分子机制

已经发现受体结构上细小的差异（一个到几个氨基酸）构成区别于受体亚型和同系物地重要地药理学和功能地不同。在 GPCR 总科里，一个氨基酸残基的改变被发现是引起大鼠 5-HT_{1B} 和 $5HT_{1D\beta}$ 受体重大药理学差异的基础[25]。同样，多巴胺 D_5 上的一个残基地改变（Asn351Asp）导致多巴胺结合亲和力降低 10 倍；而 D_2 受体上的突变引起对用于治疗精神病的典型和非典型神经阻滞药的亲和力的不同。已经观察到多巴胺 D_2 受体、mglu1 受体、生产抑素 sst2 受体和前列腺素 EP_3 受体剪接变体的偶合存在本质区别。在门控型离子通道超家族中，已经发现在一关键通道位点（GluR-B 亚单位的 Q/R 位点）的单一氨基酸残基的电荷和尺寸决定其特殊的离子选择性和通透性，这正是 AMPA-kainate-activated 通道亚型的特征[26]。对于烟碱乙酰胆碱受体的肌肉亚型，受体功能性质（通道电阻和开放时间）随五辐性络合物中的一个亚基被取代而改变的；从胚胎肌肉中 $(\alpha 1)2\beta 1\gamma\delta$ 到成人肌肉的 $(\alpha 1)2\beta 1\varepsilon\delta$。所以，由受体遗传序列编码上精细的变化而导致的受体结构和功能上极重大的改变影响药物发现过程中的目标识别、鉴定和确认。

细胞和组织对相关受体亚型的表达模式可能重叠，但通常有高度特异性和紧密地调控。例如，CXCR1（IL-8R1）和 CXCR2（IL-8R2）受体（77%序列全部一致）在胞内的分布有惊人的差异。CXCR1 的表达仅限于中性粒细胞、单核细胞和少数骨髓细胞系，而 CXCR2 则广泛地分布于骨髓细胞系以及淋巴细胞、黑色素瘤细胞、黑色素细胞和成纤维细胞[27]。这些特征性细胞内分布提示 CXCR1 受体地主要功能是在宿主防御（反应）中中型粒细胞的激活作用和促使吞噬细胞活动，而 CXCR2 受体服务于不涉及防御的细胞间接的迁移和生长。采用原位杂交法研究二乙基溴乙酰胺烟碱乙酰胆碱受体超家族信使 RNA 编码的亚基和 GPCR 的信使 RNA 编码的亚型已经证明，相应于一受体家族中同源受体亚基和亚型的转录物在哺乳动物脑内显示解剖学上的不同分布。在多巴胺受体家族的亚型中，D_2 受体大多在纹状体内高表达，D_3 和 D_5 受体在大脑边缘区域表现出优先定位以及在运动区域如基底神经节低表达，而 D_1 和 D_4 受体都大量分布于大脑皮层。所以，有效的模式是受体亚型表达模式上的功能多样化和不均一性使每一亚型和 isoform 承担一独特的药理学角色。

2. 定义受体亚型的功能

联合克隆序列以及它们与生理学和药理学性质的联系而定义受体亚型的过程遗留了一个大的挑战，尤其是门控型离子通道超家族。包括烟酸乙酰胆碱、$GABA_A$ 和谷氨酸 LGCR 家族在内的亚基分子多样性考虑到由单一异侧亚基组成的大量亚型。许多这种亚基不能直接结合配基但却决定受体复合物的结合性质。当在异源细胞内表达时，亚基组合的不同表达必须符合每个亚基在创造药理学上不同受体亚型中的各自角色。这种表达研究已经显示，由不同的 α-亚基同工型结合相同的 β 和 γ 亚基组成的 $GABA_A$ 受体重组体表现出不同的苯（并）二氮䓬类药理学性质，GABA-苯(并)二氮䓬相互作用和类甾醇调变。具有独特的药理学特性和不同的次级解剖学位置的多重受体亚型的存在为其作为新型亚型选择性药物的研发的分子靶标使用提供了理论支持，而这些新型药物是以特殊组织为靶标且有希望避开现存非选择性药物引起的副作用。

作为药物发现靶标的人受体的克隆

基因重组技术的一个重要应用是能够提供能表达为功能蛋白的人类克隆受体亚型用于药物开发工作。在克隆受体靶标出现之前，筛选程序依赖于动物组织匀浆所得到的受体的使用，其内在的不足为受体异源性、非人类药理学特性和低的受体表达水平。用于药物筛选的单一人类受体亚型的高水平表达的稳定的细胞系的发展和使用提供了一种比常规方法更为精确和有选择性的药理学筛选方法，也使能区分不同受体亚型的高选择性药物的发现成为可能，而且，细胞系已经设计成表达连接到第二信使或其他下游生化反应的重组受体为了受体占领的功能后果能被检测到。所以，不仅药物结合新型导向性化合物的亲和力能被定量确定，而且这种重组细胞系的使用提供激动剂或拮抗剂活性的快速特征性描述和在细胞水平的化合物效能的测量。已经发现在包括人类和其他哺乳动物的广泛物种的宿主细胞本底表达的许多人类重组受体亚型表现出的配基结合性质与它们的非重组“天然”受体对应物没有差别。然而，如果异源宿主细胞专一性被强加到受体上，重组体受体系统在受体分类和药理学特性中的使用会产生错误的数据。已经发现许多 GPCR 的配基结合和信号转导性质依赖于宿主细胞和受体的表达水平，所以受不同重组体表达系统决定的激动剂亲和和偶合机制可能是不同的。以人 $5HT_{1A}$ 在 HeLa 细胞株中的表达为例，某化合物在高受体密度时在细胞株中充当拮抗剂而却在受体密度降低 6 倍时则成为纯拮抗剂。相似地，已经观察到的其他 GPCR 的数据表明激动剂效能和药理学特性依赖于受体密度。

受体功能分析中的问题必须置于分析关于是否分子本

Y

身是单一受体、单一信号转导途径或一个整体的细胞响应的功能水平的上下文中考虑。例如，一个特效的信号转导途径的激活通常被看作构成受体响应。从两种不同细胞株中稳定表达的多巴胺 D_2 受体的激活引起的信号转导性质的研究中可以看出分析异源细胞重组受体的反应的复杂性。GH_4C_1 大鼠垂体细胞中或 Ltk 小鼠纤维细胞中的 D_2 受体的激活都产生腺苷酸环化酶的活性抑制[29]。然而，当 D_2 受体的激活引起一个 Ltk 细胞内的磷脂酰肌醇（PI）水解和胞内钙的增加的快速刺激，却不能引起 GH_4C_1 细胞内磷脂酰肌醇（PI）水解和胞内钙的增加。同样地，Ltk 细胞内表达的 $5HT_{1A}$ 受体的激活是对应于胞内钙的增加而当在 GH_4C_1 细胞内时则导致钙内流的减少。因为 D_2 和 $5HT_{1A}$ 受体信号转导途径中细胞专一性的不同是一致的，这些作用最有可能归因于存在于各自宿主细胞类型中 G 蛋白的配体。所以，效应器系统和转染受体反应既依赖受体又依赖它所表达的细胞的具体类型。

用杆状病毒系统在昆虫细胞内（Sf9 或 Sf21 细胞内 1～40 pmol/mg 的浓度）重组 GPCR 在膜上表达的高水平证明了拮抗剂配基适当的受体药理学性质（亲和性和强弱次序效能），然而反常的激动剂结合性质和功能偶合的缺乏也已经在一些受体上观察到。使用杆状病毒表达的 GPCR 典型地表明，只有一单一的、与激动剂低亲和的结合状态，而同样受体在哺乳动物细胞中显示高（偶合的）激动剂亲和和低（未偶合的）激动剂亲和结合状态。相似地，在酵母（M_1 毒蕈碱和多巴胺 D_2 受体）中表达的 GPCR 的药理学性质因只有单一的低亲和激动剂结合状态被检测到而不能与哺乳动物细胞相比，预示着重组受体不能与细胞内存在的内源性 G 蛋白配对[30,31]。

已经发现共表达重组体 GPCR 和适当的 G 蛋白的细胞工程提供了克服该局限性的途径。对于这样的结果，最近发现 G 蛋白 α 亚单位 Ga16 在哺乳动物细胞内与许多种 GPCR 的异源共表达实现了偶合出 PLCb 活性和胞内钙增加。在酵母中，功能性偶合是通过使用缺失一个酵母 G 蛋白 α 亚单位和包含一个 cDNA 编码的适当 G 蛋白的突变株实现的[31]。

在阐明受体结构/功能关系时，分子生物学处理方法与受体药理学的结合是有效的。嵌合体受体（由两个相关受体亚型的毗邻部分构成的杂交多肽）的结构对识别许多个体受体的功能区域有帮助。这些研究已经成功识别许多受体调节信号转导的配基结合区域和胞浆区域。在体外诱导改变单一氨基酸以产生基因电突变的受体的使用已经确定涉及受体/配基相互作用、构象的转变、离子通道选择性、信号转导和受体磷酸化位点的关键残基。由于大多数膜受体缺乏 CT 高分辨率电子计算机 X 射线断层成像的结构数据，该方法通常要求作出假设：在突变受体中，所有受体构象和受体状态间（休眠、活化和脱敏）的分布平衡已不改变。然而该实验方法已经成为大量旨在理解受体上与药物配基相互作用的特殊官能团的分子模型的基础。这种分子药理学和建模手段的结合有望揭示药物结合的结构决定子和受体蛋白上与药物作用的新的变构位点。最后，从重组体表达系统中产生的数目巨大的纯的受体蛋白使采用物理方法［核磁共振（光谱学）、电子显微镜和 X 射线衍射晶体分析］获得高分辨受体结构数据成为可能，这将能描绘配基/结合位点和精确定义药物/受体的相互作用。最近 rhodopsin 高精度结构的阐明是朝着详细理解 GPCR 超家族的三维结构的方向迈进了一大步。图 4 所示的是多巴胺 D_2 受体。

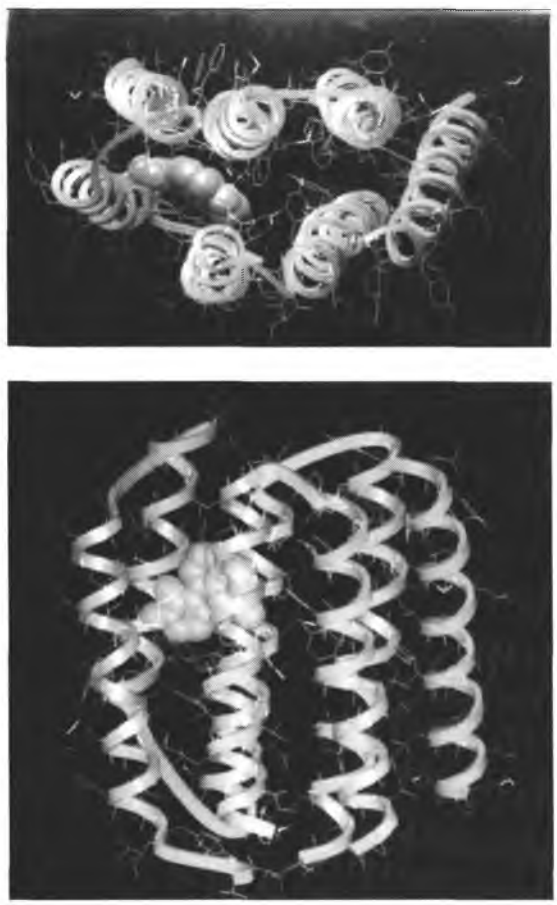


图 4　一个在结合位点有一配基结合的多巴胺 D_2 受体的分子模型。这个 D_2 受体跨膜螺旋模型是以由二维电子衍射实验确定的细菌视紫质结构为坐标而确定结构的，且与视紫质的投影结构一致。该跨膜螺旋是以一个固体带状物和空间充填的代表性药物阿扑吗啡表示。沿着受体螺旋轴向向下的顶视图清楚地显示有 7 个跨膜螺旋，这正是 GPCR 超家族的关键结构基序。相对于膜平面的垂直方向，一些螺旋是倾斜的。在图上方的底视图是带有细胞外间隙的膜平面[57]

1. 使用被采用的孤儿受体寻找新药

已经有大量的有关孤儿受体的例子，证实其为现存的功能作用证明有治疗性药物特性的受体家族的新类型或亚型。许多这样的孤儿受体是作为潜在的药物发现靶标而立

即引起兴趣的，因为它们代表新型受体亚型，其扩充了有成员是治疗上重要药物的受体靶标的现存受体家族。紧密的结构亲缘关系是受体超家族组织的分子基础，其已经使对配体门控性离子通道、G 蛋白成对、受体酪氨酸激酶和细胞核受体超家族的新成员的搜索成为可能。一般来说，新受体的发现已经通过筛选互补 DNA 文库，使用受体家族中低紧密度的保守序列（同源性筛选）。一个替代的方法已经用于人染色体 DNA 的 PCR 扩增，即使用简并寡核苷酸编码的保守受体区域。

最初的孤儿受体鉴别工作是利用聚合酶链式反应的方法克隆几个属于 GPCR 超家族的异常孤儿受体[32]。随后，这些孤儿受体被显示包含阿糖腺苷 A_1 和 A_{2a} 受体[33]、5-HT_{1D} 受体[34,35]和一个中央大麻素受体（CB_1）。聚合酶链式反应所采用的简并引物随后被用来鉴别反向转录脱氧核糖核酸编码的 NK_1、NK_2、多巴胺 D_1 和 D_5[36]、组织胺 H_3、阿糖腺苷 A_3[37]、嗅感受器和许多其他的 GPCR。这些方法的运用取得了很好的成功，并且已经导致各超家族中功能仍未确定的一系列孤儿受体（或新的亚基）的克隆。迄今为止，超过 40 个额外的配基未鉴定的细胞核受体超家族成员已经被克隆。另外，受体/蛋白酪氨酸磷酸酶超家族许多孤儿成员的配基仍未得到确定。许多属于 EPH 家族的孤儿受体/酪氨酸磷酸酶已经被确定可能通过转导由细胞间作用而产生的信号发挥功能[38]。许多 EPH 受体特异性地在神经系统中表达[39]，且这些受体涉及轴突导向地控制、细胞迁移的调整和在胚胎形成过程中区室的确定。

2. G 蛋白孤儿受体配基的鉴别

因为 GPCR 构成了人最大的受体超家族，且这些受体也代表着重要的药物靶标而被用于热烈的生物化学和药理学研究，接下来的讨论将集中在属于 GPCR 超家族的孤儿受体上。由于克隆和序列测定技术的进步，GPCR 孤儿受体的数目最初呈爆炸式增长。尤其是，结合非严格杂交、多聚酶链式反应、EST（表达的序列和标记的反向转录脱氧核糖核酸）数据库的增加和高通量序列测定技术的直接研究已经导致 GPCR 孤儿受体的数目呈指数增加，而这些都有待于配基识别。

以孤儿受体为基础的药物发现的新范例如图 5 所示。如果反向转录脱氧核糖核酸序列不完全，则对于给定 GPCR 孤儿受体的配基识别的第一步是生成一全长的克隆。为完成这一步，则须鉴定包含孤儿受体基因的特殊组织。而一全长反向转录脱氧核糖核酸的克隆的产生，典型的是使用逆转录 PCR（技术）。接着，反向转录脱氧核糖核酸被完全测序，通过使用基因库，该序列与已知 GPCR 的序列比较。如果一个 GPCR 孤儿受体接近 45%与一已知受体相同，那么有可能该孤儿受体和这个高度同源 GPCR 会共享同一配基[40]。这种方法的成功使用导致人 5-HT_{1D}[41]、C3a[42]和 CGRP[43]受体的配基得以识别。然而，GPCR 超家族却没有显示这种程度的相似性。此外，许多 GPCR 孤儿受体可能与已知的 GPCR 受体不显示显著地相似，但却与其他的孤儿受体显示高度的同源性，导致确证了新的 GPCR 家族。在这种情况下，配基识别的有用步骤是通过 RNA 印迹分析或逆转录 PCR（技术）评价信使 RNA 孤儿受体的组织和细胞类型分布。受体的 edg 家族的重要发现就是代表[44]。

大多数孤儿受体有一全部序列的低度同源性，其范围可能是全部氨基酸的 20%～30%相同，一个非常受限制的 GPCR 孤儿受体分布形式可能有助于为受体的生理功能提供线索。在正常和病态组织中的不同分布可能揭示其病理生理学角色，提示靶向于孤儿受体的药物的潜在的治疗关联性。GPCR 孤儿受体的分布信息也能指导作为在反相药理学或配基垂钓法研究中使用的内源性同源配基的来源的细胞或组织的筛选。随着芯片技术的到来，成千上万的孤儿受体的反向转录脱氧核糖核酸有可能被附加到芯片上，从而使同时评价不同的药理学条件下的表达水平成为可能。

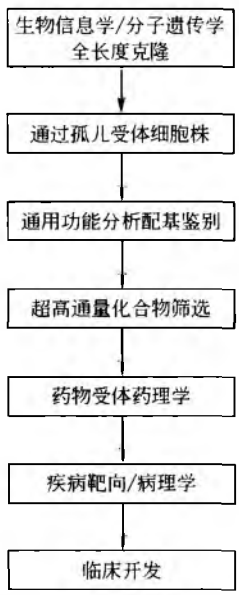


图 5 用孤儿受体作为靶标的新药发现策略。该流程图说明了在基于受体的新药发现中的变更，其基于相反的分子药理学策略。药物发现的起始材料是符合功能未知的孤儿受体的序列

3. 孤儿受体的配基垂钓

感兴趣的孤儿受体可能与已知的 GPCR 不显示显著的同源性，分布研究可能提供不了识别内源性配基的任何线索。在这种情况下，反相药理学或配基垂钓研究被采用了，尤其是对通常与内源性配基有高亲和力的多肽类受体。在该方法中，孤儿受体被用做诱饵从可能含有配基的细胞或组织提取物中分离内源性配基[40,44,45]。该方法已经发现了新的内源性多肽类配基 FQ 孤啡肽，又称痛敏肽[46]、苯基二氢喹唑啉[47]、催乳释放多肽[48]、集黑色素荷尔蒙[49]和 APJ[50]作为各自孤儿受体的同源配基。提取物中包含的内源性配基与表达的孤儿 GPCR 的特殊高亲和作用是通过一

Y

个适当的功能第二信使测量法测定的。一旦活性提取物被确定，它就能通过高效液相被分割和纯化，活性成分可能通过肽测序、质谱和核磁共振等分析手段来鉴定。

4. 孤儿 GPCR 的表达

孤儿 GPCR 配基垂钓的一个关键步骤是在适宜的胞内表达系统中表达受体。如前面讨论过的，可能的选择包括哺乳动物细胞、昆虫细胞、细菌、卵母细胞或酵母菌。选择一个表达系统的初期考虑可能集中在筛选程序中所采用的功能分析的类型。任何给定的功能分析的必要条件是表达系统中适当的信号转导结构的存在，而它通常不可能预言特殊的偶合机制和由孤儿受体激活的信号转导途径。已经证实，包括 CHO 和 HEK293 细胞在内的几个哺乳动物细胞适合于人孤儿受体的表达。所有这些包含测量第二信使系统中大多数 GPCR 介导的变化所要求的信号转导元件的全部物质[44]。在选择一适当的表达系统时必须衡量的另一因素是存在于宿主细胞株中的内源性受体的潜在干扰。该因素能通过平行筛选亲本细胞系的实验得以阐明。另外，使孤儿受体在充足的密度中表达和位于膜表面是重要的。表达水平已经通过受体的表位标记评估，膜表面的受体的测量通过荧光激活细胞分选术（FACS）或蛋白印迹分析。

5. 用于孤儿受体配基识别的功能分析

已经认识到的受体基因序列的全部价值，除它的调控和表达外，孤儿受体表达的功能也需要得到阐明。以痛敏肽为例，在一些情况下，孤儿受体会被一个至今仍不知的内源性配基（递质、肽类或激素）或过去识别为特定分子却未确定其功能的内源性配基激活。孤儿受体对内源性或代用配基的识别策略是基于频繁地使用高通量和超高通量“激动剂筛选”分析，在分析中，配基结合被配对到一细胞功能受体。

基于常规细胞信号转导途径（如激活胞内钙、cAMP、转录响应元件）的功能分析已经被采用。因为使用荧光探针通过胞内钙水平的提高、实时测定胞内钙的多种受体（LGCR、GPCR 和 RTK）介导的细胞反应已经提供了一种快速非专属的受体激活的分析方法。另外，基于细胞的转录激活分析法代表一功能性筛选方法，其要求表达连接到一个发光体或建立有荧光性的报告基因（如萤光素酶或绿色荧光蛋白）在启动子元件［如 cAMP 反应元件（CRE）、NFAT 或 STAT 结合元件］在转录控制下孤儿重组体的稳态细胞株工程。这些一步式筛选方法的内在优点包括高检测灵敏度、自动化的相容性和高流通量。

发展一套用于从提取物或化合物中筛选与孤儿 GPCR 的内源性配基或代用的激动剂的功能分析法的首要任务是确定哪一 G 蛋白调解受体的偶合。当然，这是很难确定的，除非目标孤儿受体与激活特征性的信号转导途径的已知其他 GPCR 有高度同源性。在有些情况下，G_s、G_i 和 G_q 关联的功能测定对提取物或化合物的评估都是必须的。一旦测定终端的类型被选定，在配基垂钓中有大量的高通量和强有力的功能测定可使用。可供利用的技术的商业化的进步促使超高通量筛选方法和系统的发展，其使得从 96 孔板微型化到只需微升体积的反应物的 1536 孔板。功能分析法是基于以下几种荧光检测技术中的一种，包括荧光共振能转移、极化、时间分辨荧光免疫分析和冷光技术，现在已经实现在活细胞中快速检测受体激活信号。

报告基因的测定

报告基因测定已经被广泛用于大量 GPCR 高通量的基于细胞的功能测定。在测定中，基因转录是由受体关联的转导活动激活，如细胞的 cAMP 或胞内钙的增加。报告基因通常由位于小启动子上游区的特殊反应元件构成，这些反应元件共同控制报告基因如 β 半乳糖苷萤光素酶的表达。通常使用的反应元素包括要么适合于 G_s 和 G_i 偶合受体的 cAMP 反应元素，要么适合 G_q 偶合受体的钙敏感反应元素[51]。

另一基于细胞的功能基因转录测定法由 Tsien 和其合作者发展起来，其能实时测量活细胞内基因表达的受体活性。对于这种测定，哺乳动物细胞被受体和基因转染成 β 内酰胺酶，其作为一报告因子通过水解植入胞内的外源性物质而发挥作用。高敏感荧光测定通过流式细胞技术提供了单细胞的可克隆性，且为高通量筛选奠定了基础。

有报道已经描述了用一种生物发光分析报告测定法测定 G_q 偶合受体，其中目标受体与钙敏感水母发光蛋白共感染。受体介导的激动剂激活引起胞内钙增加，导致水母发光蛋白激活以及后续的发光反应[52]。由于 GPCR 激动剂活化后发生的显著增加，该测定法能被显著地缩小，可用在 96、384 和 1536 孔板上。脱辅基水母发光蛋白在中华仓鼠卵巢细胞的短暂表达和辅助因子腔肠素的重构导致一个大的、浓度依赖性的激动剂介导的发光反应，其紧随着与内皮素 ET_A、血管紧张素 AT_2、促甲状腺激素释放激素（TRH）和神经激肽 NK_1 受体的共转染，所有这些主要与 $G_{\alpha q}$ 样磷酸肌醇酶结合的 G 蛋白作用。为产生一个在任一 GPCR 上实施激动剂活性的研究的系统，一个受体泛宿主性的 G 蛋白 $G_{\alpha 16}$ 的亚基被或者暂时地或者永久地与脱辅基水母发光蛋白在中华仓鼠卵巢细胞内被表达。在细胞内表达 $G_{\alpha 16}$，而不是在其缺失状态，与 $G_{\alpha s}$ 或 $G_{\alpha i}$ 正常作用的一系列受体的激动剂，有引起由线粒体靶向地脱辅基水母发光蛋白引发的发光反应的能力，在 A_1 腺苷受体案例中，这一反应明显是 $G_{\alpha 16}$ 激活的结果而不是 $G_{\alpha i}$ 关联的 β/γ 复合物的释放造成的，因为该发光反应在百日咳毒素处理的细胞中不受影响，而激动剂介导的腺苷酸环化酶活性抑制则减弱了。该研究阐述了脱辅基水母发光蛋白作为 GPCR 介导的钙信号的报告因子的应用。更有甚者，$G_{\alpha 16}$ 与脱辅基水母发光蛋白的共表达为非专属的在实际地鉴定任一 GPCR 激动剂活性的哺乳动物细胞微量培养板测定提供了基础，包括生理信号转导机制仍不清楚的孤儿受体。

6. 开发基于细胞功能测定的工程细胞的使用

分子工程学的进步使细胞重组的设计更加便利，而细

胞重组能用于孤儿受体广泛测定的设计。作为一个分析新发现的孤儿受体基因功能的工具，“泛宿主性的”G 蛋白已经被用于发展孤儿 GPCR 筛选，其可以被用于寻找激活这些受体的化合物。例如，“万能结合体”$G_{\alpha 16}$ G 蛋白与一个目标孤儿 GPCR 的共表达使得激活的受体配对于胞内钙的增加，虽然该受体在非工程细胞内可能不与 G_q 配对。另一常用于设计任何 GPCR 的普遍功能配基筛选系统的途径是构筑和使嵌合体 G 蛋白与一个孤儿 GPCR 共表达[53]。嵌合体 G 蛋白 α 亚基已经被构建，其中 G_s、G_i 或者 G_q 的骨架与小肽链序列相连而配对于 G_s、G_i 和 G_q 的羧基端。嵌合体的羧基末端指挥受体配对而 G 蛋白骨架决定那个效应系统被激活。例如，G_s 或 G_i 的短羧基段能与 G_q 的骨架结合，结果产生一工程 G 蛋白嵌合体，其通常能通过胞内钙增加或激活钙敏感的受体测定而发信号[53,54]。相反地，可以通过 G_s-α-亚基的骨架与 G_q 的羧基端构建嵌合体以发展一测定系统，其中 cAMP 被测量。用于孤儿 GPCR 的通用测定系统的设计能大大地方便大样本候选受体地高通量分析。

最近，已报道了许多 GPCR 甚至在缺失其天然配基或代用的激动剂的情况下激活第二信使反应。这种有不依赖配基的活性的 GPCR 被指作是结构性的活性 GPCR。三种方法已经被用于产生结构性的活性受体，它们分别为：①天然受体在异源表达系统中的过表达；②偶联于受体的适当 G 蛋白的过表达；③受体特殊氨基酸残基的变异，典型地在跨膜区或受体的胞内环上。许多制药公司正使用结构性孤儿 GPCR 采用功能的不依赖配基的筛选从小分子图库中鉴别反相激动剂或激动剂。所以，基于孤儿 GPCR 的新药发现不再需要提供用于建立新药发现用的功能性筛选的内源性配基或代用的激动剂的鉴别。在这些筛选中的发现的分析不仅能作为可能的治疗药物而且可作为进一步阐明孤儿 GPCR 的生理功能和其潜在的治疗关联的工具。

7. 内源性和代用配基的筛选

一表达的孤儿受体经过可靠而坚实的测定之后，紧接着就是筛选。第一种，细胞和组织提取物或生物体的液体可以对孤儿受体活性作出评估。如果检测到活性提取物，则活性提取物被进一步分段，在通过功能测定测试各段后用高效液相分离。在真正地纯化后，活性化合物的鉴定可以通过包括质谱和核磁共振在内的多种分析手段实现；第二种途径是用已知的药理作用筛选一个收集到的化合物以及机理未知的生物化合物；第三种方法是筛选多肽或小分子库。由于在高通量筛选和实验室自动化上取得的成就，这种方法很容易得到快速实施。一旦代用配基被识别，发现孤儿受体的生理功能和潜在的内源性配基的线索通常会被得到。

基因序列的鉴定仅是开发有用的小分子治疗剂的整个过程的开始。分析一个孤儿受体序列上仅 10～25 个氨基酸的链可能足以鉴定是否目标孤儿受体与一已知蛋白或可识别的基序有同源性，而该可识别基序对应于一个识别的配基或受体超家族特定的的功能区。基于观察到的序列与已知受体的同源性水平，推导与孤儿受体结合的配基的种类或者有可能假设一种信号转导机理。当通过与已知受体比较不能很好地预言这类受体地特征或孤儿受体显示新的药理活性时，系统地寻找孤儿受体的天然同源性配基变得更加困难。

作为第一种策略的一个例子，已变得众所周知的孤儿受体或痛敏肽受体的孤儿 ORL1（阿片受体样）受体的鉴定过程是如此地受到关注[46]，因为它代表一个能被其他孤儿受体轻易套用的模型。ORL1 受体是一个新的 G 蛋白偶合受体，其与阿片受体最紧密相关。基于 ORL1 受体与阿片受体的真正的序列同源性（全部序列的 50%，跨膜转运区的 65%），有理由假设相关的孤儿受体会共享 μ、δ 和 κ 阿片受体亚型的信号转导特性。因为所有的阿片受体都阴性地配对于腺苷酸环化酶，用非转染的中华仓鼠卵巢细胞作对照，一个稳定的重组中华仓鼠卵巢细胞株表达的 ORL1 被构造用作功能筛选。一个阿片配基的考察鉴定了羟戊甲吗啡，一个非选择性阿片激动剂，作为间接抑制福斯高林-诱导的 cAMP 蓄积的抑制，虽然已发现其效能比其他阿片受体大约低 3 个数量级。然而试着通过分析由内源性阿片多肽（内啡肽、脑啡肽和强啡肽）或其他合成的阿片配基诱导的激动剂效应以揭示 ORL1 受体的药理学特性的努力却没有成功。

基于 ORL1 与阿片受体在结构上的同源性，特别是，κ 阿片受体的酸性细胞外环 2，可以假设内源性配基是类似于强啡肽的肽。一种生化分段分离操作被用于分离一种垂体肽，其结构被鉴定为 17 个氨基酸神经肽，与其他阿片肽有许多共同之处，现已知这种垂体肽是痛敏肽。内源性配基的分离是通过以其在稳定的重组细胞株内抑制腺苷酸环化酶的能力为基础的功能测定而实现的。通过合成一个放射标记的衍生物，发现该衍生物以高亲和方式结合且是 ORL1 受体有效的特性活化剂，以此确证了痛敏肽的鉴定。小鼠脑内给药时，痛敏肽的体内活性为引起痛觉增敏，此点预示着 ORL1 受体激动剂表现出有促伤害感受特性。这种独特的药理学、生理学和新受体在脑内的分布使它成为新药发现的重要靶标。

一种替代方法可能是采用固定孤儿受体从生物提取物、分段和其他组合化学库中捕获同源配基。孤儿受体的筛选工作将能够利用大规模合成产生的任意肽、拟肽和组合化学库，这些同噬菌体展示库一样可作为每一受体发现有效和有选择性的化学个体的新的有化学的和结构差异的资源。通过从发酵液和植物以及海洋有机物的提取物中筛选新的天然产生的先导化合物可能得到结构新颖的配基，如同亚基选择性的内皮素受体肽拮抗剂的发现。

在 GPCR 超家族中，大量属于趋化因子、多巴胺能的、血清素源性的、生长激素抑制素和阿片受体家族的新受体亚型的发现和鉴定为基因克隆的巨大影响提供了实例。作为早在 1989 年最初克隆对应于 5-HT_{1D} 受体的孤儿受体序列的一个结果[55]，涉及急性抗偏头痛药作用的人受体位点

随后被鉴定了。这些受体的研究已经引起偏头痛的病理生理学的有益的见解和新的抗偏头痛药如那拉曲坦和佐米曲坦的开发，这些药物是基于其对人 5-HT_{1D}受体的高亲和力和选择性而被选定开发的。显然，孤儿受体的鉴定对新药发现所固有的价值已经被证明，并将导致大量新的、被指定为“孤儿”的、能为新药开发提供新的靶标的人类受体的发现。

8. 人体基因组测序——新的孤儿受体和亚基

生物医学界最宏伟的研究计划已经完成——人类基因组测序和鉴定所有表达的人类基因的艰巨任务。当基因数据库成为新药发现的起始点时，这项成就将推动新药发现基本手段的变革。当克隆、基因定位和测序技术的进步已经共同地促成人类序列数据库的容量激增，人类基因工程已经取得了可观的进步。完成的人类基因测序会阐明大约 25 000～35 000 个不同的全部人类基因的结构。为了集合并分析庞大的基因组数据库，生物信息学为从大量新序列中搜集供分子分类和受体结构和功能的推导用的数据库和复杂数据集合提供了有力的计算机算法和方法。这项工作的影响将使要求通过进一步研究以确定其作为新药发现靶标中潜在角色的孤儿受体的数量成指数增长。人类基因组中所有受体基因的序列和鉴别结果将提供给有益处的研究。基于 2%～3%的基因组可能是由受体构成的这一假设，则可推断将被鉴定的总的受体数目大约为 600～900 个。而此基因组项目的另一好处是可能鉴定单个的致病基因，其正是常规的或遗传性疾病的原因。在大量的实例中疾病症状与不足的受体反应、未调节的信号功能或神经递质或荷尔蒙信号的过激反应有相关性，这预示着生物医学在鉴定病症的分子病原学和寻求与疾病相关的受体靶标方面的重要性。最近的一个 Karposi's 肉瘤相关的疱疹病毒（KSHV 或人疱疹病毒 8）基因组片断的克隆揭示了一个开放阅读框编码了一个推定的 GPCR 与人 CXCR1 和 CXCR2 受体同源。表达研究显示其为真正的信号受体，其显示一个趋化因子受体的结合特性，亲和力范围在化学增活素与 CXC 和 CC 家族的亲和力之间。受体阐明在非洲绿猴细胞中的活性（不依赖激动剂的）和刺激细胞的增殖，这使得其成为病毒致瘤因子。

以受体为基础的新药发现增强的人类基因组测序平台成为包括含基因序列的 DNA 微数列的生物芯片的研制和构造的技术扩展的基础。这些生物芯片使采用特殊细胞类型或稀有组织中总反向转录脱氧核糖核酸或信使核糖核酸库的荧光杂交法的高通量筛选得以实现，并且使正常和疾病样本中大量表达的特殊受体序列得以定量测定。正常和疾病样本中表达的大量特殊受体序列的大规模定量检测被称为表达谱。这种不同的基因表达研究能检测不同组织状态中表达的受体基因的不同水平和模式，并且可作为译解受体基因功能的工具和有可能定义与特定疾病状态的关系。

总而言之，分子遗传学在大规模测序和 DNA 序列信息分析中的应用以及用于从这些序列中快速分析受体分子功能的新实验方法都被认为能鉴别大量新受体，而这些新受体将成为开发高选择性药物的分子靶标。实际上，基于基因的新药发现已经为新药物的开发提供了一个全新的途径。在高通量初步筛选程序中，组成人类受体家族的所有受体亚型的平行使用已经证实这种方法在受体亚型特效药的识别中的价值。在新药发现领域的这种开发被寄予厚望，因为这种筛选程序中发现的有治疗活性的药物具有高度的分子特异性。

目前在受体功能基因组上存在的挑战是发展成功的实验策略和新技术以鉴别能激活或抑制孤儿受体的配基，这些配基是否显示组成性基础活性。虽然已经取得了进展，继续利用分子生物学途径以使受体药理学配对于生物物理学方法上的进展，这将能提供手段以使受体结合位点和药物受体相互作用在分子水平上的精确描述得以实现。对转导配基结合引起受体激活的分子机制的更全面的理解将最终有助于发现对现存受体配基的特殊构象状态更有选择性的化合物。更有甚者，受体/蛋白相互作用蛋白的快速阐明和与受体信号相关的胞内信号转导路径的作图将加速新受体功能的理解。最终，在活细胞内和动物体内集中和描述受体基因的表达的方法能被期望为定向于特殊细胞类型和组织的新药理学干涉提供基础。

许多新技术的应用正在协同地加速从新受体基因序列到有效的作为新药发现的受体靶标以及最终的新药的这一过程。人类基因组测序的进行和随后与受体结构、功能、表达以及受体在疾病过程中担任的角色的精确分析相配对的孤儿受体的鉴别都将继续揭示新药受体靶标，这将为大量新药研发企业提供平台。

参 考 文 献

1. Kenakin, T. P.; Bond, R. A.; Bonner, T. I. Definition of Pharmacological Receptors. Pharmacol. Rev. 1992, 44, 351－362.
2. Alexander, S.; Peters, J. TIPS Receptor and Ion Channel Nomenclature Supplement. Trans. Pharmacol. Sci. Elsevier.
3. Hulme, E. C.; Birdsall, N. J.; Buckley, N. J. Muscarinic Receptor Subtypes. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1990, 30, 633－673.
4. Changeux, J. P.; Devillers-Thiery, A.; Chemouilli, P. Acetylcholine Receptor: An Allosteric Protein. Science 1984, 225, 1335－1345.
5. Bowery, N. G. $GABA_B$ Receptor Pharmacology. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1993, 33, 109－147.
6. Burt, D. R.; Kamatchi, G. L. $GABA_A$ Receptor Subtypes: from Pharmacology to Molecular Biology. FASEB J. 1991, 5, 2916－2923.
7. Seeman, P.; Van Tol, H. H. Dopamine Receptor Pharmacology. Trends Pharmacol. Sci. 1994, 15, 264－270.
8. Hamblin, M. W.; Metcalf, M. A. Primary Structure and Functional Characterization of a Human 5-HT1D-Type Sero-

tonin Receptor. Mol. Pharmacol. 1991, 40, 143—148.
9. Adham, N.; Ellerbrock, B.; Hartig, P.; Weinshank, R. L.; Branchek, T. Receptor Reserve Masks Partial Agonist Activity of Drugs in a Cloned Rat 5-Hydroxytryptamine 1B Receptor Expression System. Mol. Pharmacol. 1993, 43, 427—433.
10. Hill, P.; Hnilo, J.; Karla, M.; Bounds, S.; Herz, J. M. Cloning, Expression and Comparison of the Binding Characteistics of the Known Human Dopamine Receptors. Adv. Neurolo. 1996, 69, 41—52.
11. Kallal, L.; Benovic, J. L. Using Green Fluorescent Proteins to Study G-Protein-Coupled Receptor Localization and Trafficking. Trends Pharmacol. Sci. 2000, 21, 175—180.
12. Sine, S. M.; Taylor, P. The Relationship Between Agonist Occupation and the Permeability Response of the Cholinergic Receptor Revealed by Bound Cobra Alpha-Toxin. J. Biol. Chem. 1980, 225, 10144—10156.
13. Herz, J. M.; Johnson, D. A.; Taylor, P. Interaction of Noncompetitive Inhibitors with the Acetylcholine Receptor. The Site Specificity and Spectroscopic Properties of Ethidium Binding. J. Biol. Chem. 1987, 262, 7238—7247.
14. Sokoloff, P.; Andrieux, M.; Besancon, R. et al. Pharmacology of Human Dopamine D3 Receptor Expressed in a Mammalian Cell Line: Comparison with D2 Receptor. Eur. J. Pharmacol. 1992, 225, 331—337.
15. Chio, C. L.; Drong, R. F.; Riley, D. T.; Gill, G. S.; Slightom, J. L.; Huff, R. M. D4 Dopamine Receptor-Mediated Signaling Events Determined in Transfected Chinese Hamster Ovary Cells. J. Biol. Chem. 1994, 269, 11813—11819.
16. Lahti, R. A.; Evans, D. L.; Stratman, N. C.; Figur, L. M. Dopamine D4 Versus D2 Receptor Selectivity of Dopamine Receptor Antagonists: Possible Therapeutic Implications. Eur. J. Pharmacol. 1993, 236, 483—486.
17. Chidiac, P.; Hebert, T. E.; Valiquette, M.; Dennis, M.; Bouvier, M. Inverse Agonist Activity of Beta-Adrenergic Antagonists. Mol. Pharmacol. 1994, 45, 490—499.
18. Samama, P.; Pei, G.; Costa, T.; Cotecchia, S.; Lefkowitz, R. J. Negative Antagonists Promote an Inactive Conformation of the Beta 2-Adrenergic Receptor. Mol. Pharmacol. 1994, 45, 390—394.
19. Oswald, R. E.; Bamberger, M. J.; McLaughlin, J. T. Mechanism of Phencyclidine Binding to the Acetylcholine Receptor from Torpedo Electroplaque. Mol. Pharmacol. 1984, 25, 360—368.
20. Herz, J. M.; Atherton, S. J. Steric Factors Limit Access to the Noncompetitive Inhibitor Site of the Nicotinic Acetylcholine Receptor. Fluorescence Studies. Biophys. J. 1992, 62, 74—76.
21. Neubig, R. R.; Sklar, L. A. Subsecond Modulation of Formyl Peptide-linked Guanine Nucleotide-Binding Proteins by Guanosine 5^1-O-(3-Thio) Triphosphate in Permeabilized Neutrophils. Mol. Pharmacol. 1993, 43, 734—740.
22. Posner, R. G.; Fay, S. P.; Domalewski, M. D.; Sklar, L. A. Continuous Spectrofluorometric Analysis of Formyl Peptide Receptor Ternary Complex Interactions. Mol. Pharmacol. 1994, 45, 65—72.
23. Gether, U.; Lin, S.; Kobilka, B. K. Fluorescent Labeling of Purified β2-Adrenergic Receptor. Evidence for Ligand-specific Conformational Changes. J. Biol. Chem. 1995, 270, 28268—28275.
24. Neher, E.; Steinbach, J. H. Local Anaesthetics Transiently Block Currents Through Single Acetylcholine-Receptor Channels. J. Physiol. 1978, 227, 153—176.
25. Oksenberg, D.; Marsters, S. A.; O'Dowd, B. F.; et al. A Single Amino-acid Difference Confers Major Pharmacological Variation Between Human and Rodent 5-HT1B Receptors. Nature 1992, 360, 161—163.
26. Burnashev, N.; Villarel, A.; Sakmann, B.; Jingami, H. Dimensions and Ion Selectivity of Recombination AMPA Kainate Receptor Channels and Their Dependence on Q/R Site Residues. J. Physiol. 1996, 496, 165—173.
27. Moser, B.; Barella, L.; Mattei, S. et al. Expression of Transcripts for Two Interleukin 8 Receptors in Human Phagocytes, Lymphocytes and Melanoma Cells. Biochem. J. 1993, 294, 285—292.
28. Goldman, D.; Deneris, E.; Luyten, W.; Kochhar, A.; Patrick, J.; Heinemann, S. Members of a Nicotinic Acetylcholine Receptor Gene Family are Expressed in Different Regions of the Mammalian Central Nervous System. Cell 1987, 48, 965—973.
29. Vallar, L.; Muca, C.; Magni, M.; et al. Differential Coupling of Dopaminergic D2 Receptors Expressed in Different Cell Types. Stimulation of Phosphatidylinositol 4, 5-Bisphosphate Hydrolysis in LtK-fibroblasts, Hyperpolarization, and Cytosolic-Free Ca^{2+} Concentration Decrease in GH_4C_1 Cells. J. Biol. Chem. 1990, 265, 10320—10326.
30. Payette, P.; Gossard, F.; Whiteway, M. Dennis M. Expression and Pharmacological Characterization of the Human M1 Muscarinic Receptor in Saccharomyces Cerevisiae. FEBS Lett. 1990, 266, 21—25.
31. King, K.; Dohlman, H. G.; Thorner, J.; Caron, M. G.; Lefkowitz, R. J. Control of Yeast Mating Signal Transduction by a Mammalian b2-Adrenergic Receptor

Y

and Gs Alpha Subunit. Science 1990, 250, 121—123.

32. Libert, F.; Vassart, G.; Parmentier, M. Current Developments in G-Protein-Coupled Receptors. Curr. Opin. Cell Biol. 1991, 3, 218—223.
33. Libert, F.; Schiffmann, S. N.; Lefort, A. et al. The Orphan Receptor CDNA RDC7 Encodes an A1 Adenosine Receptor. EMBO J. 1991, 10, 1677—1682.
34. Hamblin, M. W.; Metcalf, M. A. Primary Structure and Functional Characterization of a Human 5-HT1D-Type Serotonin Receptor. Mol. Pharmacol. 1991, 40, 143—148.
35. Zgombick, J. M.; Weinshank, R. L.; Macchi, M.; Schechter, L. E.; Branchek, T. A.; Hartig, P. R. Expression and Pharmacological Characterization of a Canine 5-Hydroxytryptamine 1D Receptor Subtype. Mol. Pharmacol. 1991, 40, 1036—1042.
36. Zhou, Q. Y.; Grandy, D. K.; Thambi, L. et al. Cloning and Expression of Human and Rat D1 Dopamine Receptors. Nature 1990, 347, 76—80.
37. Zhou, Q. Y.; Li, C.; Olah, M. E.; Johnson, R. A.; Stiles, G. L.; Civelli, O. Molecular Cloning and Characterization of an Adenosine Receptor: The A3 Adenosine Receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1992, 89, 7432—7436.
38. Lindberg, R. A.; Hunter, T. cDNA Cloning and Characterization of ECK, an Epithelial Cell Receptor Protein-Tyrosine Kinase in the EPH/ELK Family of Protein Kinases. Mol. Cell. Biol. 1990, 10, 6316—6324.
39. Bartley, T. D.; Hunt, R. W.; Welcher, A. A. et al. B61 is a Ligand for the ECK Receptor Protein-Tyrosine Kinase. Nature 1994, 368, 558—560.
40. Marchese, A.; Sawzdargo, M.; Nguyen, T. et al. Discovery of Three Novel Orphan G-Protein-Coupled Receptors. Genomics 1999, 56, 12—21.
41. Maenhaut, C.; Van Sande, J.; Massart, C. et al. The Orphan Receptor CDNA RDC4 Encodes a 5-HT_{1D} Serotonin Receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1991, 180, 1460—1468.
42. Ames, R. S.; Li, Y.; Sarau, H. M. et al. Molecular Cloning and Characterization of the Human Anaphylatoxin C3a Receptor. J. Biol. Chem. 1996, 271, 20231—20234.
43. Kapas, S.; Clark, A. J. Identification of an Orphan Receptor Gene as a Type 1 Calcitonin Gene-Related Peptide Receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1995, 217, 832—838.
44. Wilson, S.; Bergsma, D. J.; Chambers, J. K. et al. Orphan G-Protein-Coupled Receptors: The Next Generation of Drug Targets? Br. J. Pharmacol. 1998, 125, 1387—1392.
45. Civelli, O. Functional Genomics: The Search for Novel Neuro-transmitters and Neuropeptides. FEBS Lett. 1998, 430, 55—58.
46. Meunier, J. C.; Mollereau, C.; Toll, L. et al. Isolation and Structure of the Endogenous Agonist of Opioid Receptorlike ORL1 Receptor. Nature 1995, 377, 532—535.
47. Sakurai, T.; Amemiya, A.; Ishii, M. et al. Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G-Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. Cell 1998, 92, 573—585.
48. Hinuma, S.; Habata, Y.; Fujii, R. et al. A Prolactin-Releasing Peptide in the Brain. Nature 1998, 393, 272—276.
49. Chambers, J.; Ames, R. S.; Bergsma, D. et al. Melanin-Concentrating Hormone is the Cognate Ligand for the Orphan G-Protein-Coupled Receptor SLC-1. Nature 1999, 400, 261—265.
50. Tatemoto, K.; Hosoya, M.; Habata, Y. et al. Isolation and Characterization of a Novel Endogenous Peptide Ligand for the Human APJ Receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1998, 251, 471-476.
51. Colquhoun, D.; Hawkes, A. G. A Note on Correlations in Single Ion Channel Records. Proc. R. Soc. London, Ser. B. Biol. Sci. 1987, 230, 15—52.
52. Stables, J.; Green, A.; Marshall, F. et al. A Bioluminescent Assay for Agonist Activity At Potentially Any G-Protein-Coupled Receptor. Anal. Biochem. 1997, 252, 115—126.
53. Milligan, G.; Rees, S. Chimaeric G Alpha Proteins: Their Potential Use in Drug Discovery. Trends Pharmacol. Sci. 1999, 20, 118-124.
54. Conklin, B. R.; Herzmark, P.; Ishida, S. et al. Carboxyl-Terminal Mutations of Gq Alpha and Gs Alpha that Alter the Fidelity of Receptor Activation. Mol. Pharmacol. 1996, 50, 885—890.
55. Maenhaut, C.; Van Sande, J.; Massart, C. et al. The Orphan Receptor CDNA RDC4 Encodes a 5-HT_{1D} Serotonin Receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1991, 180, 1460—1468.
56. Arvanitakis, L.; Geras-Raaka, E.; Varma, A.; Gershengorn, M. C.; Cesarman, E. Human Herpesvirus KSHV Encodes a Constitutively Active G-Protein-Coupled Receptor Linked to Cell Proliferation. Nature 1997, 385, 347—350.
57. Teeter, M.; Fromanitz, M.; Stec, B.; Du Ravid, J. Homology Modelling of the Dopamine D_2 Receptor and Its Testing by Docking of Agonist and T Ricyclic Antagonists. J. Mod. Chem. 1994, 37, 2874—2878.

（程志红 王 娟 译）

药物输送：鼻腔给药

Rene Bommer
E. Pfeiffer GmbH, Radolofzell, Germany

引言

如今，制药行业越来越关注药物经鼻给药，在所有的给药方式当中约有2%为经鼻给药。一项对医药企业决策者的调查表明了该给药方式的重要性[1]。药物透黏膜给药途径（包括鼻腔给药）通过药物透膜过程，到达靶组织，这也被视为影响医药市场的主要因素。

最普遍的看法是，经鼻给药剂型应用于局部起效的药物。其中，众所周知的是用于治疗堵塞性或过敏性鼻炎相关症状的局部解充血药或抗炎药物，这些药物可以直接在病灶起效。

另外，鼻腔给药是取代注射给药的一种诱人途径，提供了药物直接进入体循环的通路，某些药物经鼻给药后能透过鼻黏膜进入循环系统。自从人类文明伊始，药物或有药理活性的化合物的经鼻使用就一直存在。在印度，草医学利用了经鼻给药的优点。吸食烟草和迷幻剂在各个民族都普遍存在。对全身起作用的药物而言，迅速起效是经鼻给药的一大好处。

由过去几年中该非注射给药批准速度的加快，可以看出其吸引力所在。局部治疗的药物平均年增长速率约为10%，而全身治疗的药物的增长速率接近30%。值得注意的是20世纪90年代有超过半数的全身性治疗药物获得批准[2]。

从20世纪80年代起，全身治疗药物的经鼻给药剂型已经出现。后叶催产素是第一个用于鼻腔给药的多肽激素，用于促进子宫收缩及乳汁分泌；同时期还有数种多肽药物鼻用制剂上市。目前，由于对新型强效制剂的需求越来越大，经鼻给药得到越来越多的关注，而且必须考虑患者有效用药的要求。目前，经鼻给药系统要求达到三个主要指标：可靠性、安全性、有效性，在开发局部给药和全身给药的剂型时必须考虑到以上三个因素。

鼻腔给药装置可分为多剂量、单/双剂量给药系统。多剂量给药装置包括一个容器及一个机械雾化泵，雾化泵可将同一容器内的药物以多剂量喷出（图1）。给药装置的设计与功能可以满足制剂与患者的各种需求。单/双剂量给药装置日益引起制药行业的兴趣，特别是需要精确给药剂量的治疗可以使用这些一次性或两次使用的给药装置。

鼻部，或者更准确地说是鼻腔，为药物的给药部位。因此，鼻腔的解剖与生理对药物的有效使用起了决定作用。首先，鼻黏膜要比胃黏膜对外界影响更为敏感；另外，鼻腔给药剂量小，副作用也随之减小。鼻腔给药具有较多好处：第一，鼻腔对活性药物的处置可以避免“首过效应”的降解；第二，鼻腔内药物的酶解几乎可以忽略；第三，鼻腔给药起效迅速，甚至可与注射途径相当。



图1 各种多剂量系统

鼻腔的解剖与生理

鼻子在人体中有两个主要功能：第一个功能为嗅觉功能；第二个功能为呼吸功能。

鼻中膈将鼻腔分为左右两半，但并非垂直地平分鼻腔。在人的正常发育生长过程中，鼻中膈发生折叠与重合而使两个鼻腔不对称，这种不对称性往往又是因人而异的。人们从而认识到鼻腔不是圆形中空的，而是呈细长条形。由于鼻中膈大部分由软骨和黏膜组成，药物难以透过进入循环系统。鼻腔中药物吸收的有效部位是含有丰富血管和黏膜的鼻腔侧壁表面。

人鼻黏膜面积大约是150cm^2，鼻腔内的黏膜由纤毛上皮细胞覆盖，纤毛的活动是鼻腔中黏液移动的动力，每天约有1L黏液从鼻腔前部流至后部，流至后部的黏液通过吞咽清除，纤毛活动的功能是清除呼吸时黏附在黏液上的颗粒。整个黏液层每20～30min更新一次。

鼻黏膜是感知外界环境变化的天然部位，而鼻子还具有众多的循环及分泌活动，使其十分适合反射环境的变化。鼻周期是最明显的自主反射之一，大多数人的其中一个鼻道的阻力都会周期性地增大，但是总的鼻道阻力保持在一定的水平。这种周期性变化是由鼻甲的膨胀引起的，膨胀和随后的闭合周期约为4h。鼻子是个非常复杂的器官，要使药物能够有效地透过黏膜吸收，需要注意如下几点[3]：

- 给药方法和技巧；
- 药物沉积部位；
- 鼻黏液的清除速度；

· 鼻子的病理状态。

Y

传统经鼻给药系统

传统的经鼻给药系统包含滴鼻剂、吸管剂或挤压喷雾剂。某些特定药物可做成滴鼻剂和吸管剂，但对其可靠性、安全性、有效性仍有争议。从解剖学的角度看，滴鼻剂仅适用于幼儿，因为幼儿的鼻腔小，一两滴就能将黏膜表面全部覆盖。从药理学角度来看，人们对给予幼儿和儿童滴鼻剂持有保留意见。比如说，由于滴鼻剂的剂量难以精确控制，医生建议儿童最好不要使用类固醇药物的滴鼻剂[4]。成年人使用滴鼻剂后，大部分药液通过鼻腔底部流向咽部被快速清除。研究表明，喷雾剂比滴鼻剂在鼻黏膜的保留时间要长[5]。要使成人使用滴鼻剂能达到喷雾剂的效果，鼻腔内需要给予 20～30mL 的药液。这在药理学上是不现实的，对于患者来说也是不可接受的。

挤压喷雾剂改善了药物在鼻腔内的分布情况，因为可将药物以雾状喷出，从而比滴鼻剂接触到更大的黏膜表面。挤压喷雾剂的主要缺点是因其喷出量与喷雾性状，剂量不可控，如喷雾角度与粒径的分布在很大程度上取决于瓶子压力的大小。此外，剂量与雾化形状还易受挤压气雾剂内药液与空气的影响。在使用过程中，液面不断下降改变了容器内液体与气体的比例，使两次间的给药量产生差异。鉴于此，儿童不宜使用收缩血管药物的该种剂型[6]。

挤压喷雾剂是一个“开放”的装置，没有阀门或类似的机械装置密封以保证药液不被污染。使用时，瓶口经常与鼻孔接触，自然会造成污染。瓶子的压力释放后，返流的药液有可能带入细菌。经过合适的生长期，容器内的药液会被污染。尽管可以加入防腐剂以抑制生物负载，但是其作用有限。

如今需要依赖可靠的给药系统将高效药物输送到局部和全身。目前，已使用抛射剂驱动或机械分散的给药装置来代替挤压喷雾剂和吸管剂。在吸入治疗方面，气雾剂已众所周知，其使用简单、操作方便。但是在新的抛射剂出现之前，人们仍将关注其对环境、药理效应的影响。新的抛射剂必须得到足够的临床以及毒理学数据证明其安全性，同时也必须解决相容性问题。另外，其所使用的表面活性剂也存在争议。

但是，对于患者而言，将一个冷冰冰的喷嘴伸入鼻孔，并且表面活性剂和抛射剂会导致刺激性，这会让人感到不舒服；另一个不足之处是，压力将药物喷出的同时会对脆弱的鼻黏膜产生冲击力，药物仅沉积在有限的区域，从而未能均匀地分散于黏膜表面。研究表明，从不同角度两次将药物喷入鼻腔可以覆盖足够的黏膜表面[7]。患者最好在医生的指导下使用鼻用气雾剂。

机械分散系统

机械分散装置是压力分散装置之外的另一种鼻腔给药装置，所设计的动力系统用途广泛，不局限于溶液的喷射，还可用于混悬液、乳剂、软膏以及凝胶的分散。

这种装置的核心部位为基本泵或称其为“马达”（图 2），泵的底部为一根吸管，连接瓶内药物；顶部为推钮。使用这种机械分散系统之前需要预喷数次以排除空气，将标示体积的药物充满定量室。这组装置的主要功能为预填装药液，由泵内可活动的部件联动而成。当揿下推钮，预填装药液被推出，压缩弹簧将钢球压入球座，使定量室内药液压力升高而打开阀门，通过推钮喷出药液；推钮的返冲力使定量室处于一定的真空，将钢珠从球座吸出，药液通过吸管再次充入泵中。

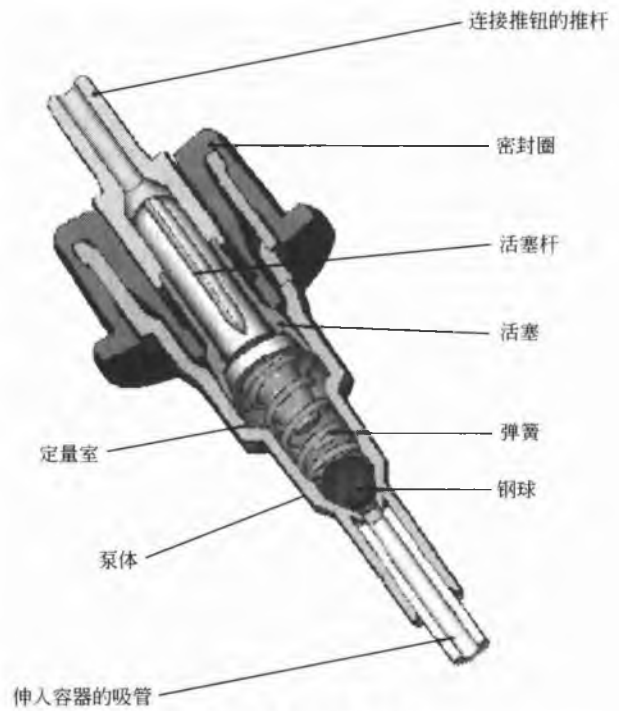


图 2 机械型基本泵

市场上的机械泵种类多样，但基本工作原理相同。第一步称为灌注，通过抽吸将药液导入泵的定量室；第二步是从定量室中排出所需的药量；第三步是准确地将药液分散喷出。

根据患者的不同需要，泵分散装置可用不同的密封系统（如螺旋式、折叠式、卡盖式）固定于容器上。喷出体积、喷雾角度以及雾滴的粒径分布是决定分散装置好坏的最重要因素。现在，厂家可以提供不同喷出体积的装置，从 20～1000μL 都有，通过各个泵的定量室来决定剂量（图 2）。

影响喷射效果的关键因素有药液的黏度、触变性、表面张力以及密度，变动涡轮室和入液腔也可以对喷射进行调整，满足不同患者的需要（图 3）。通过改变喷嘴的几何形状和定量室的设定压力都可以改善粒径的分布，其中重要的一个指标是要保证极小粒径的雾滴较少，以避免药物的部分吸入。

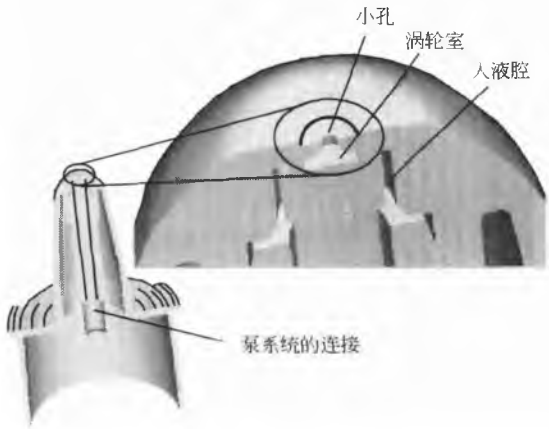


图 3 鼻腔推钮的出口部分

制药企业对喷雾装置的要求越来越高，进一步推动了喷雾系统的发展，并完善了新的概念。

幼儿、儿童与成人对经鼻给药所需的剂量各异。图 4 为经典的喷雾装置，采用卡盖式密封系统，其分散装置可以根据个人鼻腔构造的不同而进行调整。儿童使用的装置的推钮较薄，从而减小了喷雾体积（图 5）。

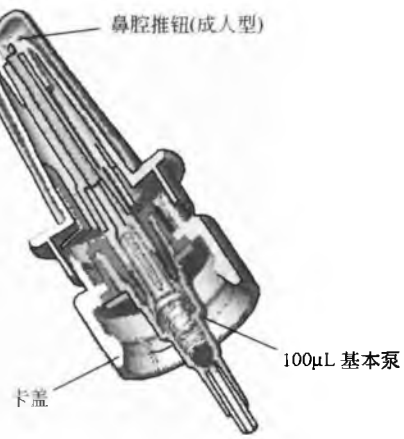


图 4 具有卡盖的 100μL 鼻腔喷雾系统

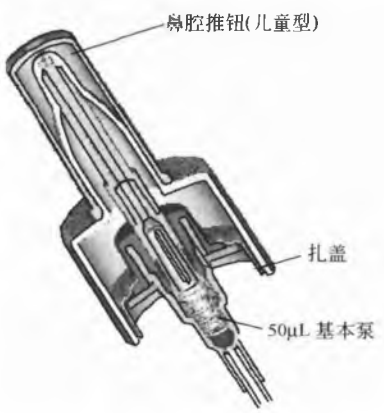


图 5 具有扎盖的 50μL 鼻腔喷雾系统

装置上手指的凸缘可以满足患有关节炎和风湿病的年龄大的患者的需要。将推钮进行适当的改装后给动物用药，用于治疗动物疾病或临床前研究。也可以配上倒置的泵，将装置直立、倒立都可以进行给药。

目前，还有可以计数的给药装置（图 6）。这样可以让消费者监测从一开始到最后一次的每一次用药。对于管制类药物，如吗啡的使用，在系统上安装栓塞进行给药控制。对于一些患者的特殊要求，可以采用微型芯片进行给药控制，如控制给药频率和给药剂量，并对相关数据进行记录以供医生分析。

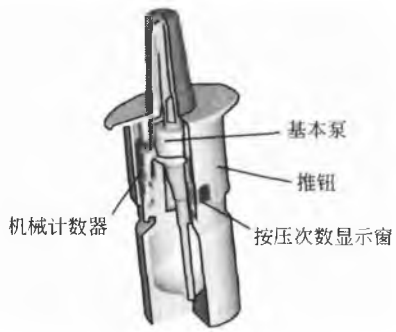


图 6 整合了计数装置的鼻腔喷雾系统

不含防腐剂的给药系统

当前鼻腔给药的研究趋势是制备不含防腐剂的制剂，因为长期使用防腐剂会对鼻黏膜纤毛活性产生刺激性；此外，经济的原因也是关键之一。制药企业为获得更长久的专利使用期限，通常会对现有产品进行剂型改造，而其难点在于研制给药装置以防止不含防腐剂的处方在应用中不被污染。

现在已有不含防腐剂的机械泵装置面世。预防污染基本上有两种方法——化学法和机械法。化学防腐剂作用可靠，但是大多数添加剂都被认为是安全的“杀毒剂”，不能完全杀死某些细菌和真菌。采用无防腐剂的机械泵装置可以将污染源隔离。采用一种特殊的装置插入喷雾装置的推钮，在吸管的末端密封（图 7）。泵启动后由于液体的不可压缩性，在推钮中产生一定的压力，在喷雾中产生的流体压力一旦高于弹簧的压缩力，密封针受压向后移动，药液就由喷嘴喷出。由于喷嘴的半径很小以及液体所具有的压力，液滴以较大的速度喷出，此时污染源无法逆着气流移动。密封系统不仅起到防止污染的作用，还可以防止余下药液的挥发以及防止其中的固体成分结晶或沉淀在推钮上。

这种无防腐剂的喷雾装置的特点之一就是可以防止污染从推钮进入密封容器内。药液从密封容器喷出，容器内将产生一定的真空度，有两种方法可以保证压力平衡：一种是加上换气装置；另一种是随着内部药液的减少，密封容器改变形状。第一种方法是在气体进入容器之前将微生物过滤[7]，这样就需要用抗 γ 辐射材料的垫圈代替普通垫

Y

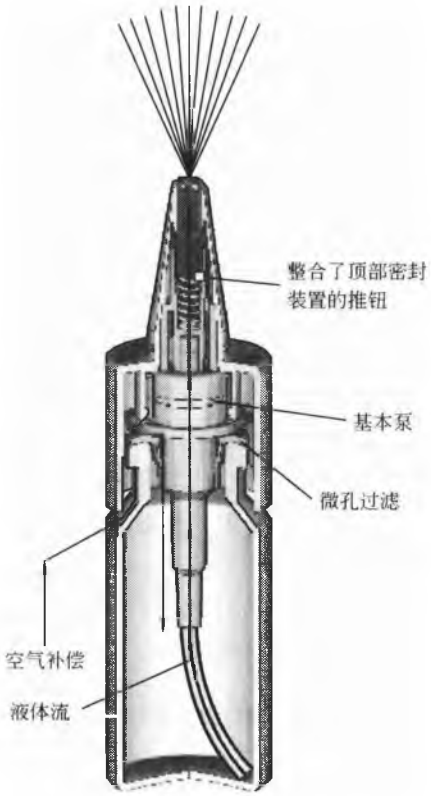


图 7 不含防腐剂的给药系统

圈，这种垫圈可以过滤任何微生物，以阻止其进入密封容器[8]。第二种方法采用的是可塌陷式容器或滑塞装置。但是，考虑到药物处方的相容性以及药物对其包装材料的透过性，必须对塌陷式装置进行详细的考查。因为现有的橡胶注射器和玻璃注射器都是采用滑塞式，制药企业更倾向于使用多层塌陷式装置。联合使用滑塞式玻璃容器以及推钮的吸管密封系统，从而获得不含防腐剂、不含空气的喷雾装置（图 8）。从消费者角度看，其优点之一是药液残留量很少，可以忽略不计；另一个特殊好处是可以 360°地使用。

单剂量、双剂量系统

单剂量、双剂量给药系统的设计目的是向鼻腔单剂量或双剂量地给药（图 9）。与多剂量给药系统相比，单剂量、双剂量给药装置的喷雾驱动机理不同。给药剂量由预装的玻璃瓶预定，并由橡胶塞密封。所用的玻璃与橡胶材料均与注射器材料相同，很好地防止了外界因素的影响。单剂量、双剂量给药装置可以在无菌环境灌装而无须添加防腐剂，由压力调控的喷雾机制是基于密封指针的化学惰性，保证了恒定的喷雾体积、性状以及粒径分布，几乎不可能改变其喷雾行为。

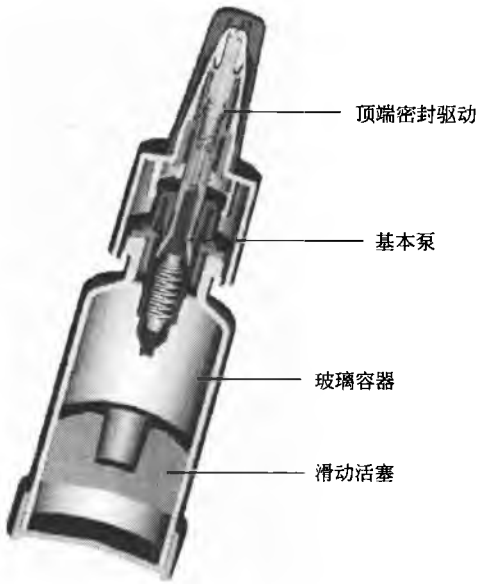


图 8 不含防腐剂和无气体系统

对于鼻腔给药系统的关键指标：可靠性、安全性、有效性，单剂量、双剂量给药装置能够满足其最高程度的要求。此外，这种系统也有助于进行质量控制。这种驱动机制的喷雾给药与使用者的操作相关性很小。因为该系统不受使用者包括质检员的影响，所以检验的结果会更加可靠。患者喜爱随时可用且操作简单的给药装置，这种包装体积小、一次性，在任何地方都可以用药。该装置的另一个好处，就是能够形成独特的商标，有别于市场上的其他样式。

对稳定性差的药物采用改善的单剂量给药装置，将冻干的组分与溶剂分别储存，使用前复溶混合后再给药。

粉末吸入系统

鼻腔给药系统不仅仅是药物溶液剂或混悬剂，干粉剂在许多药物的鼻腔给药上具有更多的优点，特别是生物技术类药物，其在干燥固体状态下更为稳定。研究表明，与液体制剂相比，干粉剂在鼻黏膜黏附停留的时间更长[9]，鼻腔用粉末的粒径分布没有干粉吸入剂的宽。

最近有人对疫苗经鼻干粉吸入剂进行了研究。疫苗通常都是以溶液形式进行注射或制成冻干粉末，使用前复溶后再注射给药。全球范围内有很大一部分疫苗是由于其在冷藏过程中发生断电而暴露于较高的温度下，使其效价降低而不得不丢弃[10]。考虑到物理稳定性，干粉形式的制剂减小了环境的影响，从而大大提高了稳定性。通过鼻黏膜途径给药的流感疫苗，因为一系列的黏膜反应增加了药理活性。

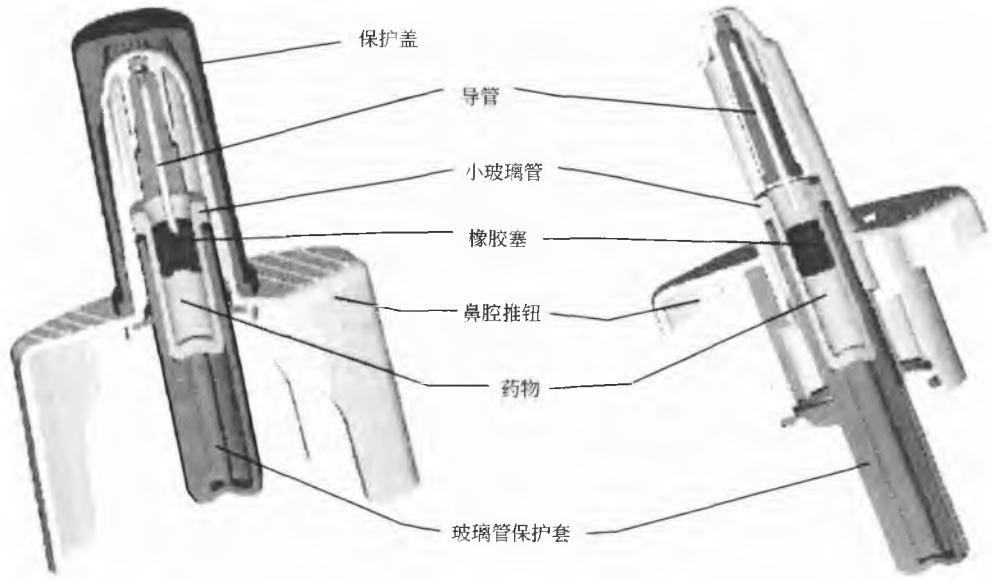


图 9　单剂量和双剂量系统

鼻腔干粉给药系统分为主动和被动两种方式。被动吸入是指通过吸气将药物干粉吸入；主动方式大多由压缩气体驱动，通过高速气流分散经过容器并将药物带入鼻腔。干粉吸入装置利用了这样一个事实，即鼻子的过滤功能。最近研究的被动干粉双剂量吸入给药系统（图 10）由两个填充泡囊组成，可以很好地防止水分转运，隔绝空气，并具有避光功能。其气体动力学特点以及简易的触发模式在喷出药物和吸入力量方面增加了给药剂量的准确性。该装置的气体阻力小，能够很好地将药物覆盖在黏膜上。同时，患者将泡囊内容物吸出也非常方便，只要吸入气体的速度达到 8L/min 以上，气流将在鼻腔内形成湍流[11]，可使药物均匀分散达到最佳疗效。

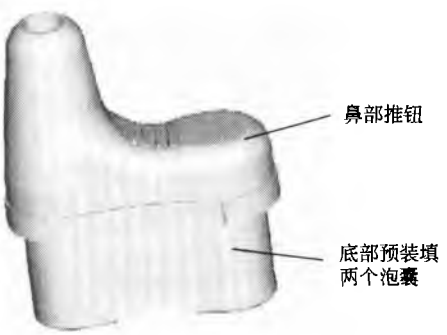


图 10　粉末双剂量系统

鼻用粉末剂的粒径大小的重要性不如吸入剂的粒径大小，对于肺部吸入剂而言，其粒径应在 1～5μm。要使药物更好地沉积在鼻腔内，必须避免使用此 1～5μm 的粒子，而大于 10μm 或小于 1μm 的粒子不易被吸入。

主动给药装置可以产生一定的压力将粉末吹入鼻腔，这种给药方式特别适用于儿童，因为他们难以按照要求进行吸入。

鼻腔制剂及其药理效应

20 世纪 90 年代以来，已有众多经鼻给药制剂通过审批上市，包括了局部作用的药物，特别是全身作用的药物[12]。大多数的药物并非新发现的化合物，而是由过去的口服或注射途径改为鼻腔给药。

经鼻给药优点显著，起效迅速，避免了胃肠道的降解和首过代谢。此外，鼻腔给药所需剂量小，也就意味着较少的副作用。其他的优点包括经济方面的考虑，如专利延期、医疗系统的经济效益，当然还有患者的依从性。

为成功开发一个经鼻制剂，必须在药物开发的早期全面考虑药物性质、给药系统以及鼻腔生理条件。局部药物的研究集中在将鼻黏膜吸收的药物量降到最低以及尽量延长滞留时间。全身作用的药物需要有效地吸收进入血液以达到最佳的生物利用度。现在的观点认为，亲水大分子药物通过细胞间通道吸收，亲脂性药物通过细胞转运而吸收[13]。给药装置必须和药物剂型相适应，以使药物在鼻腔的沉积达到最优。因为药物通过鼻这个复杂的器官给药，所以研究人员对鼻腔解剖学结构及其生理条件要有相当的了解。

最近，有人公布了一项关于亲水性喷雾泵与非便携性喷雾器沉积方式的比较研究试验[14]，对其结果具有相当的争议，相对标准偏差为 35%～80%，这显示了人与人之间鼻腔与生理结构的差异性。其他的试验研究表明，喷雾性能（如喷雾角度和粒径分布）的差异并不一定会导致体内沉积的差异[15]。

闪烁扫描试验显示喷雾角对粒子的沉积方式几乎没有影响[16]。鼻腔的不同特性也可以从动物试验进行解释，Gizurarson比较了不同物种之间的差异并进行了总结[17]。

Y

如前所述，鼻腔给药的主要好处是起效迅速（t_{max}）。偏头痛的治疗正是借助了这一点，与口服片剂相比，t_{max}明显缩短。神经分泌的褪黑激素广泛用于时差综合征，鼻腔给药后显示了极好的药时浓度曲线[18]，达峰浓度比口服增加了50倍[19]。

近来，鼻腔给药对术后疼痛的处理引起了人们的关注，芬太尼的经鼻给药剂量仅是静注剂量的1.1～1.5倍[20]。对被称为PCINA（患者可控式鼻腔止痛法 patient-controlled-intra-nasal-analgesia）的新的应用领域，制药企业要求给药装置的安全性可以借助于智能微电子特性来实现。

在疗效和患者依从性方面，疫苗的经鼻给药十分具有吸引力。目前，流感的大面积接种尚未实现，对疼痛的恐惧使许多人不愿意接受流感疫苗的注射接种，而经鼻给药后能够依次产生黏膜免疫和系统免疫，证明了疫苗经鼻给药的有效性[21]。

结语

经鼻给药制剂在全世界范围内的销售额约为80亿美元。最新的研究表明，鼻腔给药的发展极有前景。不仅研制的新药，而且市场上已经销售的产品经过剂型改革，都可考虑采用经鼻给药。因为新化学合成药（NCE）的研发时间需要10～14年，而将现有产品改造成经鼻给药仅需要4～5年。

经鼻给药装置的制备技术日益复杂，使得其生产企业与管理机构的联系更加密切。要想成功开发出产品，制药企业和装置生产企业必须在开发研究的初期就开始沟通合作，平均来说，产品提早1年上市，创造的利润要高出30%。

装置生产企业已经采用各种方式对鼻腔剂型的给药进行研究。装置的技术水平越来越重要，不仅关系到药理方面，如疗效或安全性，还关系到医疗保健的发展趋势以及市场因素，如患者的依从性和品牌认同。经过详细评价后，消费者将会选择合适的给药装置以达到有效的治疗效果。有关全身作用的经鼻药物的药理学方面的问题已经在文献中进行了广泛探讨[3,6,22]。

参考文献

1. Moore, J. The Drug Delivery Outlook to 2005; Reuters Business Insight; Datamonitor PLC: London, 1999.
2. www. imshealth. com.
3. Chien, Y. W.; Su, K. S. E.; Chang, S.-F. Nasal Systemic Drug Delivery; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 1.
4. BMJ 1998, 317, 739.
5. Hardy, J. G.; Lee, S. E.; Wilson, C. G. Intranasal Drug Delivery by Spray and Drops. J. Pharm. Pharmacol. 1985, 37, 294—297.
6. Mygind, N. Nasal Allergy; Blackwell Scientinc Publications: London, 1979; 260.
7. Mygind, N. Nasal Allergy; Blackwell Scientinc Publications: London, 1979; 261.
8. Huester, R. Unpublished Results. Fresenius Institute; Taunsstein, Germany, 1998.
9. Illum, L. The Nasal Delivery of Peptides and Proteins. TIBTECH 1991, 9, 284—289.
10. State of the World's Vaccines and Immunizations; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1996.
11. Fischer, R. The Physics of the Airflow in the Nose; Habilitation Thesis, University Berlin: Berlin, Germany, 1969.
12. Behl, C. Intranasal Drug Delivery Technology for CNS Drugs Nasal Drug Delivery Conference, London, March, 23—24, 2000.
13. McMartin, C.; Hutchinson, L. E. F.; Hyde, R.; Peters, G. E. Analysis of Structural Requirements for the Absorption of Drugs and Macromolecules from the Nasal Cavity. J. Pharm. Sci. 1987, 76, 535—540.
14. Suman, J. D.; Laube, B. L.; Dalby, R. Nasal Nebulizers versus Aqueous Nasal Spray Pumps: A Comparison of Deposition in Human Volunteers. Respiratory Drug Delivery VI, Hilton Head Island, SC, May, 3—7, 1998; School of Pharmacy of Virginia Commonwealth University; Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, 1998; 211—218.
15. Suman, J. D.; Laube, B. L.; Ta-chun, L.; Brouet, G.; Dalby, R. In Vitro Tests of Aqueous Nasal Spray Pumps May Not Predict In Vivo Deposition Pattern. Postersession Aerosol Delivery, AAPS New Orleans, LA, Nov, 14—18, 1999.
16. Newman, S. P. Deposition Pattern of a Nasal Pump Spray. Rhinology 1987, 26, 111—120.
17. Gizurarson, S. Interspecies Comparison of Nasal Characteristics. Acta Pharm. Nord. 1990, 2 (2), 108—112.
18. Merkus, F. W. H. M Nasal Melatonin, US Patent 6, 007, 834, 1999.
19. Merkus, F. W. H. M.; Verhoef, J. C. Cyclodextrins in Nasal Drug Delivery. Adv. Drug Delivery Rev. 1999, 36, 41—57.
20. Toussaint, S.; Maidl, J.; Schwagmaier, R.; Striebel, H. W. Patient Controlled Intranasal Analgesia (PCINA) with Fentanyl for the Treatment of Postoperative Pain. Int. Monitor 1998, 10, 63.
21. Kuno-Sakei, H.; Kimura, M.; Ohta, K.; Shimojima, R.; Oh, Y.; Fukumi, H. Developments in Mucosal Influenza Vaccines. Vaccines 1999, 12 (14), 1303—1310.
22. Chien, Y. W. Transnasal Systemic Medications; Elsevier: Amsterdam, 1985.

（羊 臻 译）

药物输送：肺部给药

Michael T. Newhouse
Inhale Therapeutic Systems, Inc., San Carlos, California, U. S. A.

引言

在过去的十多年里，新型的可分散性处方和气雾剂给药装置用于输送治疗全身和呼吸系统疾病的可吸入多肽、蛋白质和各种小分子药物，引起了研究者越来越浓厚的兴趣。这些包括但不限于传统的虽未被充分利用但长期可用的治疗哮喘和慢性阻塞性肺部疾患（COPD）的药物。利用肺部作为药物进入血循环入口的研究进展已极大地扩展了肺部给药的应用前景。这项先进的技术最初应用于大分子的全身给药，如胰岛素、β-干扰素或 α_1-蛋白酶抑制剂。它们通过深呼吸进入肺部，促进了大分子和小分子药物的全身给药。先进的肺部给药技术提供了一个独一无二和创新的给药途径，可替代那些通常必须通过注射（肌注、静注或皮下注射）或口服而引起副作用或吸收很差的给药方式。确实，通过肺部用药的一个主要优势是可能改善药物的治疗指数，即疗效对副作用的比值。肺给药主要用于治疗肺部疾病，但由于可以减少可能与肝细胞损伤有关的首过效应，因此也可用于治疗全身疾病。肺给药提供了一种可能更好、更经济的治疗和预防呼吸系统和全身疾病的方式（如疫苗）。

吸入给药的优势

肺给药技术的发展扩展了一个药物类别（称为“可吸入药物”），即通过吸入给药进行呼吸道和全身治疗的药物。吸入给药较注射、透皮和口服给药具有许多的优势，凭借目前可用的和将来的治疗手段能治疗各种不同的疾病，对患者和医生有更大的吸引力。

第一，吸入给药提供了一种非侵害的方法，即将目前只能注射给药的药物分子输送到血液中，这些药物包括多肽和蛋白质，如治疗糖尿病的胰岛素或用于多发性硬化症的β-干扰素，以及近年来由生物技术公司发展的大多数药物。加利福尼亚圣卡洛斯的吸入治疗系统公司正在开发的先进的肺给药技术，提供了一种可替代注射给药且能方便和无痛地用于多肽和蛋白质全身给药的方式。临床试验中患者的反馈和广泛的市场研究支持这样的观点，即可吸入药物将是一种受欢迎的注射剂替代品。

第二，吸入给药能够实现有效的肺部靶向用药，用于相对常见的呼吸道疾病如哮喘、肺气肿、支气管扩张和慢性支气管炎的治疗。直接给药通常导致更好的治疗效果，且所需药物量少于口服或注射给药。

第三，吸入给药起效迅速，接近于静脉注射，比口服或皮下注射要快。迅速起效的给药方式有利于疼痛、癫痫、恐慌或焦虑发作、高血压危象、过敏反应（严重变态反应、食物、虫咬）、恶心、心血管症状（心律不齐、中风）和帕金森病的治疗。对于这些疾病，给药速度是很重要的。

第四，吸入给药代替口服给药可以避免如溶解性差、生物利用度低、消化道刺激性、不必要的代谢、食物影响和剂量差异等胃肠道问题。

大分子及其重要性

大分子是由 3 个或 3 个以上的氨基酸、糖、核苷酸等组成的聚合物。大分子蛋白质通常通过重组技术制备，而最小的多肽主要通过化学合成制备。

经过近 20 年的发展，生物技术和基因重组技术的创新使更多的大分子药物获得批准使用。近年来，仅在美国就有至少 30 种大分子药物获准进入市场，超过 130 种正处于临床试验过程中，大部分是治疗折磨世界上大多数人的慢性和亚急性疾病。因为绝大多数正在探讨的疾病需要多剂量用药，而且需要常年使用多剂量注射剂，因此这就显得特别重要。

多年以来，药学界一直在寻找一种能够替代注射剂作为大分子药物的给药方式。如果不使用渗透促进剂如表面活性剂或电子脉冲，这些蛋白质和多肽大分子则由于分子太大，不能被动和有效地透过皮肤或鼻黏膜。如果口服给药，大分子药物在进入血液之前就会被消化或降解。因此，口服、透皮和鼻腔给药途径对大分子药物效果不好。相反，研究表明，很多大分子药物通过吸入给药输送到肺深部，就能被自然吸收并迅速进入血液。

为什么肺给药系统是最佳的途径？

从好的说，长期注射因存在大量的卫生问题和潜在副作用令人不舒服。从坏的讲，长期注射使患者接受这个能最有效治疗某个疾病的特定治疗方案的依从性产生了障碍，因为许多患者面临频繁的注射时会选择不定期治疗或根本不治疗。

尽管注射剂是生物技术生产的大分子药物的主要给药方式，但研究者已经探索了许多非侵害替代方式。口服给药仍然是大部分小分子药物最常用的给药方式。然而，口服给药往往不能用于大分子药物，因为蛋白质在进入血液之前已被消化。市场上还没有成功的多肽和蛋白质口服给药制剂，不过 DDAVPC（9 个氨基酸）和环孢素（11 个氨基酸）例外，因为它们有能抵制消化的小分子多肽。

Y

对于大分子，皮肤具有比胃肠道更不易渗透的界面，因此使用“贴剂”作为蛋白质和多肽的被动透皮给药至今还未成功。多肽和蛋白质可以使用高压“无针”注射装置通过皮肤射入体内。注射蛋白质如胰岛素的装置已应用了多年，然而由于伴随着不适和存在潜在的“溅回”传播血源性疾病（如艾滋病或肝炎）的可能，该装置未能给医生和患者留下深刻的印象。

就实际进入体内的药量而言，鼻腔给药的方式并不是很有效。为了提高有效性，必须添加渗透促进剂，这可能会导致局部刺激性。

相反，研究已表明许多分子可以通过肺被动地吸收进入血液，并且有较高的生物利用度，不需要使用其他非侵害途径所使用的促进剂[1]。对于治疗全身疾病，生物利用度可定义为通过任意给药方法实际进入血液的药量与给药装置装载的总剂量的比值。

呼吸道习惯于应付大量的生物或非生物颗粒的长期暴露。这些颗粒存在于每天必须吸入以完成气体交换的20 000L空气中。由于正常人肺防御机制的作用，健康者一生中的大部分时间里肺是喉以下无菌的部位。根据美国政府工业卫生学会议，一个人可以每天吸入大约30mg的惰性灰尘进入肺中而对人不产生影响[2]，这说明肺是一个相当强健的器官。另外，没有证据显示吸入自体蛋白会产生组织免疫反应。肺深部具有的高生物利用度和强健的器官功能，使它成为多肽、蛋白质和其他可以用于全身治疗的小分子药物的天然入口。

乘着气流到达肺的深部

肺有巨大的表面积，分子可以通过肺表面吸收进入血液。当吸一次气时，空气沿着气管和支气管到达肺泡上皮。支气管分支12～13次，成人支气管的表面积大约为0.8m²。支气管的上皮排列着比较厚、具纤毛的且覆盖有低黏度纤周液体的假复层柱状上皮细胞。漂浮在纤周液体上面的是大块且较厚的胶状黏液，由于纤毛的快速击打而向咽部推进。

当药物气雾剂通过支气管沉积在肺的深部时，进入体内的主要障碍是0.15μm厚的Ⅰ型肺泡细胞层，该细胞层上主要覆盖有表面活性剂和相对可渗透的肺泡毛细血管内皮组成的上皮细胞衬液。肺泡细胞具有所谓的紧密连接，是大分子如蛋白质和多肽吸收的障碍，并可以预防肺水肿的发生。

肺泡上皮

成人肺泡上皮大约有100m²，差不多是一个单人网球场的大小。肺泡上皮由大约500 000 000个直径300μm的微小肺泡组成。肺泡外面包裹着巨大的毛细血管网，气体交换和大、小分子药物透过细胞要经过这个巨大且超薄（0.1～0.2μm）的肺泡膜。肺泡上皮由薄的、无纤毛的、无黏液覆盖的细胞层（主要是Ⅰ型和Ⅱ型固定肺泡细胞）组成。薄的上皮细胞液膜，主要是表面活性剂，覆盖Ⅰ型和Ⅱ型肺泡上皮细胞。

Ⅰ型肺细胞构成了大部分的上皮表面。大而薄的Ⅰ型肺细胞是肺蛋白质吸收的主要部位。存在于Ⅰ型细胞间隙的Ⅱ型肺细胞，是表面活性剂的主要来源，并且当Ⅰ型肺泡细胞凋亡（程序性细胞死亡）大约120天后取代Ⅰ型细胞。

在细胞下面和细胞间扩展的是评价和提呈树突状细胞的抗原。位于上皮表面的可移动吞噬细胞的巨噬细胞，每个肺泡大约有15个。巨噬细胞可去除外源性生物和非生物颗粒，并帮助保持肺泡细胞表面的无菌。巨噬细胞是免疫系统抵御吸入性有机体的第一道防线。防止巨噬细胞吞噬吸入药物颗粒的关键是溶解度。药物最好能快速溶解于上皮表面的上皮细胞液膜中，可有助于巨噬细胞摄入药物。含药脂性小的颗粒能加速这个过程。

跨细胞作用

人体通过一种发生在肺深部的跨细胞作用被动吸收多肽和蛋白质。跨细胞作用允许药物分子通过不渗透的细胞膜，不需要在细胞上打洞和破坏屏障（图1）。这个过程由无数的微小膜泡或胞转小泡执行。胞转小泡是由一侧细胞膜凹入并融合到另一侧细胞膜而形成的。包含溶解蛋白的小体积肺泡液体，能迅速地由“车队”从肺泡细胞的一侧运输到另一侧。

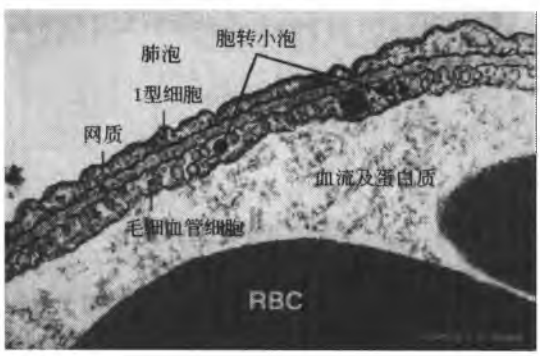


图1 肺深部跨细胞转运示意图

小分子药物和多肽也可通过肺表面一个类似的叫做细胞间隙转运的过程吸收。这主要通过连接细胞的紧密连接实现。然而，同跨细胞作用的快速和高效相反，细胞间隙转运是缓慢和低效的。

许多通过肺泡细胞转运的溶解蛋白会经过毛细血管上皮细胞（也靠跨细胞作用）快速重吸收进入血液。某些大分子蛋白质通过肺淋巴组织间隙缓慢排入淋巴管，然后经由胸导管和上腔静脉进入血液。

目前还不能解释清楚肺跨细胞作用的生物学意义。其机制通常认为是控制气道液体量和在正常的“家务”生理过程中通过上皮细胞来回转移内源性蛋白。跨细胞作用和细胞间隙转运作用都是由细胞器调节的复杂细胞过程。

这两种过程的结果都是以非侵入方式转运蛋白质和多肽进入血液[3]，具有相对较高的生物利用度，且不需使用渗透促进剂。

药物分子能够非常迅速地进入血液，因此比其他任何非静注给药方法起效更迅速。这对于需要快速起效的适应证如止痛、解除肌肉痉挛、恐惧或焦虑发作、高血压危象、心律不齐、过敏反应（对于食物和虫咬的严重变态反应）、恶心、心血管症状（心律不齐、脑卒中）、帕金森“闭锁”和癫痫发作尤其重要。

肺吸收的特点

用于跨细胞作用的巨大、高度血管化表面

支气管约 0.8m^2

肺泡约 80m^2

肺泡对生物制品的高度通透性；绝大多数小分子和许多大分子能够通过呼吸道被吸收

相对快速的一级速率吸收

较少的首过代谢与胃肠道和肝降解

人肺中的细胞色素 P450 酶的浓度＜肝中的 0.7%

据报道，人肺中只有 1A1 和 4B1 P450 异构酶

肺部给药的临床应用

在后基因组时代，肺部给药打开了通过非侵害方式给予多种大分子药物的大门。既然通过肺途径给药是可行的，制药公司可以考虑开发只有注射剂或只能口服给药的大、小分子的新制剂，而且对于慢性或亚慢性疾病治疗的药物，制药公司与其花多年时间开发其口服给药制剂（或完全放弃这个项目），不如利用肺部给药系统用于大分子药物给药，可节省多年的研究时间。肺给药系统由于起效更加迅速、能改善吸收和避免胃肠道给药引起的首过效应损失，可取代许多药物的口服给药。

几乎每个生物治疗产品，不管是慢性的还是长期使用的，都将从非侵入给药方式获得益处。它可以为制药公司提供更具竞争性的优势，扩大产品市场和（或）考虑新的适应证。另外，注册新吸入给药系统可以延长一个药物的专利期、增加患者的依从性和减少可能的医疗花费。

由于生物技术的发展不仅对新大分子而且对通过肺给药的新装置有很大的影响，不久的将来，患者和医生将能使用这种途径治疗如糖尿病、肝炎、骨质疏松症、多发性硬化症、遗传性肺气肿、纤维化囊肿和其他肺感染。

肺给药也能用于输送疫苗。仅在美国，16 岁以下的儿童要忍受多达 14 次的疫苗注射，而且由于新研究开发了更多的疫苗，这个数目还在上升。另外，如果包括仪器和人员的花费，一次单独注射的费用将增加 4 倍。而且，对针的恐惧减少了依从性，因此肺给药在这个领域有增加市场份额的潜力。可吸入疫苗可以用于预防流感、肺炎、结核病、麻疹、细胞巨化病毒、黏液侵入性疾病，比如，性传播疾病（包括 HIV）。

肺疾病和肺部给药

肺部药物靶向长期用于治疗肺部疾病，特别是哮喘和 COPD、非 CF 和 CF 支气管扩张症、细支气管炎和近来的流感。其他肺部疾病如肺实质纤维化、急性气管炎、肺炎甚至原位肺癌，也很有可能用吸入给药治疗。吸入白细胞 Il2 和 GM-CSF 由于具有一些优点已用于治疗继发性肺恶性肿瘤。

至于肺部感染，可通过吸入在肺部形成更高浓度的抗生素，达到快速的强杀菌效果而产生较少的细菌耐药。另外，局部给药可达到相同的治疗效果且减少了全身副作用。

肺给药存在的问题和解决方法

在 20 世纪 50 年代中期，开发了第一个压力定量气雾剂（MDI）用于支气管扩张症的肺局部给药。这是治疗哮喘的一个重要进展，它使气雾剂药物以便宜的且小型多剂量的装置形式方便易得。

气雾剂的世界市场是由于哮喘和慢性阻塞性肺疾患（COPD）的发生率不断上升以及选择气雾剂作为药物处方和装置一体化的患者数目不断增多而增长。一直到最近，药物公司发展肺给药系统主要是为了分散药物进入肺部气道，用于肺局部治疗。应用的系统有压力定量气雾剂（pMDI）、呼吸活化干粉吸入装置（DPI）、液体喷射器和超声雾化器，对治疗气道炎症和支气管狭窄很有疗效。

然而，关于大多数药物的全身给药，目前上市的气雾剂还存在许多不足：

（1）系统效率低。作为昂贵的蛋白质和多肽给药，商业上要可行。目前可用的系统总体效率仍然太低。正确的气雾剂颗粒大小对于优化肺深部给药非常重要。研究证实，为了获得最佳的肺沉积效率，颗粒的气体动力学直径应在 1～3μm 内。颗粒如果太大，会滞留在咽和喉。颗粒如果太小，则会被呼出。大部分现存 MDI 系统只能输送小部分（10%～20%）合适粒径的药物到达肺深部沉积[4~6]。最近开发的皮质激素 pMDIs 1μm 溶液气雾剂已能达到 60%或更高的肺沉积率。

（2）每揿药量低。大多数现存的系统中，到达下呼吸道的每揿总药量很低（少于 1000μg[6]）而不能用于许多需要毫克级剂量的大分子的实际给药。既然大分子药物的药效大小差异很大（从每剂量数毫克到数十毫克），那么装置有效装量的可变性对于大分子新药物是一个非常重要的特性。传统吸入系统主要设计用于输送某些现在使用的最大效力的药物，即吸入支气管扩张剂和皮质激素用于治疗哮喘。这两种药物在肺中 5～50μg/剂内都具有生物活性。相

Y

反，许多多肽和蛋白质药物肺深部的剂量需要在 2～20mg/剂内[1]。

（3）大分子的处方稳定性差。现有的气雾剂系统的处方不是设计用于保护敏感的大分子的。多数传统的小分子哮喘药物是结晶状的，皮质激素在干燥状态下比较耐湿。相比多数大分子，它们在液体状态下仍能相对稳定，而大分子在液体状态下不稳定，在干燥状态下是无定形的，对湿度非常敏感。但也有例外，比如 Genentech 公司的阿法链道酶［第一个 FDA 批准的气雾剂蛋白，一个 33kDa 消化酶（DNase），用于分解囊肿性纤维化中浓厚的、很易感染的黏液］，它以稳定的液体喷雾制剂上市。其他蛋白，如生长素、G-CSF 和干扰素在喷雾中会聚集和部分变性[7]。

（4）剂量的重现性差。由于各种原因，现有的系统用于多数大分子药物的全身给药，剂量重现性差异很大[6,8]。许多年来，医生和患者同样忍受了吸入哮喘药物剂量的高度差异性，由于这个药物具有很宽的治疗窗，优化药物剂量往往只是试验和误差的问题。只有支气管扩张剂以轻松呼吸为特征的快速改善能够使患者知道他们是否使用了正确的吸入技术和剂量。目前，还没有任何的大分子药物具有这种快速的生物反馈。

解决这些问题以保证吸入药物治疗有效性的可能方法，包括活性干粉给药系统、活性液体发泡技术和氢氟烃类（HFC）抛射剂雾化系统。

1. 干粉末吸入（DPI）系统

干粉气雾剂通常是高度可溶的，它能够在穿过 I 型肺泡细胞内的薄细胞浆中间缓冲器和到达毛细血管内皮之前快速溶解在肺深部表面覆盖的液体层中。干粉系统的主要优点包括产品和处方的稳定性（甚至在室温或高于室温的温度下）、每揿可输送低或高的药量、不易受微生物感染和可应用于可溶或不溶性药物。

开发该系统用于大分子给药面临的挑战包括湿度的控制、粉末生产的效率、粉末填充的重现性、包装的剂量单位以及有效可靠的气雾剂分散和给药装置的开发。

其中的问题之一是细小的粉末颗粒趋向于相互黏合。当患者缓慢吸入时，形成的块状物很难再分散成可吸入的颗粒。用于哮喘的呼吸动力干粉吸入装置尝试利用快速有力呼吸所产生的力量分散粉末块。但是，强烈快速的呼吸不能有效地分散和定向细小的粉末块到肺深部。这主要是因为颗粒活动性差引起多数药物滞留在咽部。

大分子给药系统成块问题的一个解决方法是使用足够的动力迫使粘连的粉末分散开。一个从事该问题研究的公司——加利福尼亚圣卡洛斯的吸入治疗系统公司，已经设计出使用声速压缩气体（1.5mL）雾化粉末的装置（图 2）。解聚的颗粒在气雾剂的雾化室里形成一个静止的云团。然后，患者进行一次缓慢控制速度的深呼吸吸入静止的云团，无需患者协调气雾剂的雾粒产生与吸入之间的同步。另外，缓慢深呼吸有利于药物有效地到达肺泡。



图 2　用于肺全身给药的先进吸入装置技术。说明：一个可折叠和伸展的用于全身给药的先进吸入装置。患者可以使用该装置和粉末化药物替代注射或服药片。该装置的滑片可以像一个望远镜一样打开和关闭以便于携带，特别适合经常自我用药的患者。患者打开装置，插入发泡粉，然后按手柄压缩装置内部的少量空气。通过按开关，患者可以使压缩气体以较大的速度释放，分散发泡粉中的粉末并送入 200mL 的雾化室。在雾化室中粉末形成静止的云团。患者先吸入雾化云形式的细小药物粉末，然后吸入一定体积的空气推动药物进入肺深部，且被吸收进入血液

气雾剂有效地定向肺深部的关键是：①由微粉化技术得到的易分散粉末的处方；②小巧、便宜和便于使用的能产生药物气雾的装置；③以缓慢的呼吸速率（低于 20L/min）吸入，使上呼吸道和大呼吸道的沉积最小化。

2. 液体系统

液体系统便于填充和利用已存在的大分子可注射处方。然而，这些系统仍无法用于多肽和蛋白质的给药。目前液体系统比干粉系统的每揿药物载量低（因为大于 95% 的量都是水）、处方稳定性差（特别对于难溶性药物）及装置中

微生物易繁殖。目前，大分子药物的液体系统面临的挑战是处方稳定性、单剂量包装、高药物装载量和开发有效可靠的装置。

最古老的气雾剂给药系统中有一种空气喷射雾化器，它能将药物溶液变成小液滴的薄雾，患者在10～30min/剂的时间范围内吸入。笨重的电动力喷射雾化器常常用作哮喘的后备给药系统，哮喘的吸入给药装置并没有放弃使用小型可携带的MDI和DPI。雾化器对于大分子的作用很强，会引起大分子在吸入前聚集[7]。

一些药物公司致力于新一代液体系统的发展。新系统可携带、更有效、对大分子更温和，并且能以远小于老式雾化器的喷雾量输送药物。两个开发先进肺部给药液体系统的公司是Aradigm公司和Aerogen公司。

3. 抛射剂系统

抛射剂动力系统的最佳例子是20世纪50年代以来用于治疗哮喘的著名小型罐吸入装置（压力定量吸入装置或pMDI）。最初破坏臭氧的氯氟烃（CFC）抛射剂已被对环境破坏较小的氢氟烃（HFC）取代。HFC抛射剂系统给患者带来了小巧便宜并容易填充的多剂量装置。但是，HFC抛射剂目前尚不能保证大分子药物治疗所需的处方稳定性。现在的设计只能输送很低的每揿载药量，具有较低的肺输送效率，以及较差的水溶性大分子稳定性和较高的剂量差异[6]。

有关肺部给药的其他问题

尽管这个领域的科学在不断发展，许多人仍对肺部给药可接受的生物利用度和重现性担忧，而其他人则担心大分子肺深部吸收的安全性。

1. 剂量重现性

通过对胰岛素的气雾剂给药和皮下给药的人体研究对比，发现使用静止云概念的液体喷雾器后血糖反应的变异性，与注射相当或更好[9]。吸入治疗系统公司将静止云的构想用于干粉吸入装置，以实现大分子进入全身血液循环（同皮下注射相当）的重现性。

2. 安全性

不管患者具有健康的肺还是患肺疾病，不断增长的数据表明吸入蛋白质可以是安全的（表1）。对相对稳定的肺疾病（除非肺实质的损害或破坏非常严重，即如果患者损失了超过60%的肺功能）大多数研究者不希望肺给药的系统差异与注射剂不同。患典型的上呼吸道疾病如感冒和流感时，肺功能仍保留了正常水平的70%～100%。即使得了感冒或流感呼吸容量比平时下降了30%，如果在缓慢深呼吸开始时应用静止云技术提供气雾剂云团，一次正常深呼吸水平70%的深呼吸就能够输送气雾剂药物进入肺。

表1 多肽和蛋白质气雾剂的安全性

分子	研究[1)]
胰岛素	89位患者
	24个月
DNase	大约10 000位患者
	大概4年
肝素	544位患者
	1天到1.3年
α-干扰素	16位患者
	一直到67个星期
乙酸亮丙瑞林	数百位患者
	6个月
α1-抗胰岛素酶	12位患者
	1天；1～7天
抗生素	数百位患者
	一直到2年
γ-干扰素	5位患者
	12天

1）这些研究没有对肺产生任何有害的影响[10～17]。

关于大分子的气雾化有大量的临床经验，至今未出现严重的安全问题，也没出现喉刺激或咳嗽的严重问题。到目前为止，开发中应用于人体的多肽和蛋白质几乎是无味的。采用适当的处方，咳嗽的发生率非常低。然而颗粒较大（大于5μm）会引起咳嗽，这与化学组成无关。因此，颗粒大小保持在所谓的细小颗粒范围是很重要的（比如，小于5μm）。

随着肺部给药技术的进步，如果能解决制药公司和患者所关心的肺部给药问题（包括经济评价、批准、给药和卫生保健的管理），那么肺部给药系统将无疑成为最重要的替代给药途径。

参考文献

1. Akwete, A. L., Gupta, P. K., Eds.; Niven, Delivery of Biotherapeutics by Inhalation Aerosol. Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 151—231.
2. American Conference of Governmental Industrial Hygienists Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices (1992), Cincinnati, OH, 29.
3. Patton, J. S. Mechanisms of Macromolecule Absorption by the Lungs. Adv. Drug Delivery Rev. 1996, 3—36.
4. O'Riordan, T. G.; Palmer, L. B.; Smaldone, G. C. Aerosol Deposition in Mechanically Ventilated Patients: Optimizing Nebulizer Delivery. Amer. J. Resp. Crit.

Care Med. 1994, 149, 214—219.

5. Hindle, M.; Byron, P. R. Dose Emissions from Marketed Dry Powdered Inhalers. Int. J. Pharm 1999, 116—169.
6. Lalor, C. B.; Hickey, A. J. Generation and Characterization of Aerosols for Drug Delivery to the Lungs. In Ref (1). 235—276.
7. Akwete, A. L., Gupta, P. K., Eds.; Delivery of Biotherapeutics by Inhalation Aerosol. Inhalation Delivers of Therapeutic Peptidos and Proteins; Marcel Dakker, Inc.: New York, 1993; 151—231.
8. Everard, M. L.; Devadason, S. G.; Summers, Q. A.; Le Souef, P. N. Factors Affecting Total and 'Respirable' Dose Delivered by a Salbumatol Metered Dose Inhaler. Thorax 1995, 746—749.
9. Patton, J. S.; Platz, R. M. Aerosol Insulin—A Brief Review. Respiratory Drug Delivery IV 1994, 65—74.
10. Cefalu, W. T.; Balagtas, C. C.; Landschulz, W. H.; Gelfand, R. A. Sustained Efficacy and Pulmonary Safety of Inhaled Insulin During 2 Years of Out Patient Therapy; Poster Presented at American Diabetes Association 60th Scientific, Sessions, San Antonio, Texas, June 2000; For the Inhaled Insulin Phase II Study Group, Burlington, VT and Groton, CT.
11. Ogden, Jill, Dr.; Rogerson, Cheryl; Smith, Ian Issues in Pulmonary Delivery. Scrip Magazine; June 1996; 56—60.
12. Kohler, D. Aerosolized Heparin. Journal of Aerosol Medicine 1994, 7 (4), 307—314.
13. Kinnula, V.; Cantell, K.; Mattson, K. Effect of Inhaled Natural Interferon-Alpha on Diffuse Bronchioalveolar Carcinoma. European Journal of Cancer 1990, 26, 740—741.
14. Martin, R. J.; Boguniewicz, M.; Henson, J. E.; The Effects of Inhaled Interferon Gamma in Normal Human Airways. Amer. Rev. of Respiratory Disease 1993, 148, 1677—1682.
15. Adjei, A. L. Regulatory Issues Concerning Systemic Delivery via the Respiratory Tract: Leuprolide as a Demonstration Model. Journal of Aerosol Medicine 1995, 8, 131.
16. McElvaney, N. G.; Hubbard, R. C.; Birrer, P.; Aerosol Alpha-1 Antitrypsin Treatment for Cystic Fibrosis. Lancet 1991, 337, 392—394.
17. Hall, C. B. Aerosolized Treatment of Acute Pulmonary Infections. Journal of Aerosol Medicine 1989, 2.

进一步阅读

American Conference of Governmental Industrial Hygienists Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices, Cincinnati, OH, 1992; CA, 229

Green, J. D. Pharmacological-Toxicological (Expert Report on Recombinant Human Deoxyribonuclease I (rhDNase; pulmozyme™). Human & Experimental Toxicology 1994, 13, S1—S42.

Holt, P. G.; Britten, D.; Sedgwick, J. D. Suppression of IgE Responses by Antigen Inhalation Studies on the Role of Genetic and Environmental Factors. Immunology 1987, 60, 97—102.

Kinnula, V.; Cantell, K.; Mattson, K. Effect of Inhaled Natural Interferon-Alpha on Diffuse Bronchioalveolar Carcinoma. European Journal of Cancer 1990, 26 (6), 740—741.

Martin, R. J.; Boguniewicz, M.; Henson, J. E.; Celniker, A. C.; Williams, M.; Giorno, R. C.; Leung, D. Y. The Effects of Inhaled Interferon Gamma in Normal Human Airways. American Review of Respiratory Disease 1993, 148 (6 pt 1), 1677—1682.

Pauluhn, J., Martins, T. Effects and Fate of Aerosolized Alpha1-Antitrypsin (alpha 1-AT) in Rats Following Subacute Inhalation Exposure; Abstracts of Fourth International Aerosol Conference Los Angeles, CA, Aug. 24-Sept. 2, 1994.

Van Zandwijk, N. E.; Jassem, R.; Dubbelmann, E.; Braat, M. C.; Rumke, P. Aerosol Application of Interferon-Alpha in the Treatment of Bronchioalveolaer Carcinoma. European Journal of Cancer 1990, 26 (6), 738—740.

Wolff, R. K.; Dorato, M. A. Toxicological Testing of Inhaled Pharmaceutical Aerosols. Critical Reviews in Toxicology 1993, 23 (4), 343—369.

（陈桂良 陈 昂 译）

药物输送：局部和透皮给药

Kenneth A. Walters
Arrex Analytical Services Ltd, Cardiff, United Kingdom

简介

在过去的30年里，皮肤和透皮给药领域取得了重大的进展，已有许多这方面的研究和综述发表[1~9]，因此本章主要专注于更多最新的创新发展和研究方向。综述可能不完全详尽，如有疏漏，不管是故意的，还是无意的都敬请谅解。如果读者对促进透皮吸收的物理方法感兴趣的话，如离子导入、电致孔、超声促渗等，可以阅读 Banga[5]、Lai 和 Roberts[10] 及 Kost 等[11] 的综述，Guy 等[12]、Ilic 等[13] 和 Lombry 等[14] 的研究论文。同样，详尽的外用和透皮给药处方也将省略，因为在别处都有详细的讨论[4]，经皮给药吸收的数学计算和预测将会简要地提及，但读者如果要仔细探究其中的复杂之处，需要参考 Pugh 等[15] 和 Roberts 等[16] 的详细分析。本章主要讨论对皮肤屏障性质的最新认识和新的减小透皮屏障功能的化学方法；讨论通常与外用和透皮给药相关的能减少皮肤不良刺激的方法；同时，还将简单介绍最新的给药系统。最后，将介绍皮肤治疗的最新法规要求。

角质层的形成、微观结构和屏障功能

1. 角质层的形成

角质层的形成经过细胞分化过程的几个阶段，由最底层的基底细胞分化开始，然后形成棘层，再往上形成粒层、透明层，最后是角质层，形成结构不同的各层[17]。细胞从基底分化到形成角质层需要大约21天。引起角质层细胞分化的确切机理并不很清楚。可能是蛋白激酶C和一些角元细胞因子在分化的过程中起到了调节的作用[18,19]。

在棘层的外层内含有细胞内被膜的粒层（直径为100～300nm），在这些粒层细胞中，可以观察到平行排列的板层亚单位，被认为是角质层细胞间脂质层的前身[20,21]。在粒层细胞的最外层，被膜颗粒迁移到胞浆膜，进行融合，并最终将内含物分泌到细胞间隙[20]。被膜颗粒分泌内含物是形成上皮层渗透屏障的基本要求[22,23]。因此，表皮外层的整个分化过程是角质层细胞特殊的化学形态变化过程，分化的最后结果是形成细胞内的蛋白质基质和细胞间的脂质层。

角化的细胞外膜为角化细胞的最外层，主要由紧密的角蛋白丝束平行聚集在角化细胞的表面。此外，膜由蛋白和脂质成分组成，脂质成分以共价键结合在蛋白质的表面。此膜蛋白质靠近胞浆膜的内表面[24]。角化细胞的蛋白质膜在角质层细胞间的脂质结构排列中起着重要的作用，角化细胞表面的化学键合脂质膜由 N-ω-羟基神经酰胺组成，它与包膜蛋白基质中外皮蛋白的 α 螺旋结构或 β 层状结构提供的众多的谷氨酸侧链形成酯键[25,26]。如果缺少了 N-ω-羟基神经酰胺，角质层细胞间隙的脂质层不能保持正常状态，皮肤的屏障功能也就被破坏了[27]。

2. 细胞间脂质

角质层细胞间的脂质作为连续的脂质相占有约20%的角质层体积，并排列成数层片状结构。它们由27%胆固醇、41%N-脂酰基（神经）鞘氨醇、9%游离脂肪酸、10%胆固醇酯和2%胆甾醇基硫酸盐（表1）组成[28]。在基层中占主要成分的磷脂被转变为葡糖苷酯酰鞘氨醇，然后转变为 N-脂酰基（神经）鞘氨醇和游离脂肪酸，因此在外层的角质层中很少有磷脂的存在。八种在人的角质层中的 N-脂酰基（神经）鞘氨醇已经被分离和鉴别出来[29,30]，但是个别类型的 N-脂酰基（神经）鞘氨醇的功能不是很清楚。同样的，胆甾醇酯在角质层薄层内的确切功能也未弄清楚，但是它可能起到连接相邻的双分子层和充当辅助稳定成分的作用。

表1 角质层细胞间脂质组成

脂质	质量分数/%	摩尔分数/%
胆固醇酯	10.0	7.5[1)]
胆固醇	26.9	33.4
胆固醇硫酸酯	1.9	2.0
总胆固醇衍生物	38.8	42.9
神经酰胺1	3.2	1.6
神经酰胺2	8.9	6.6
神经酰胺3	4.9	3.5
神经酰胺4	6.1	4.2
神经酰胺5	5.7	5.0
神经酰胺6	12.3	8.6
总神经酰胺量	41.1	29.5
脂肪酸	9.1	17.0[1)]
其他	11.1	10.6[2)]

1）基于16个碳原子的烷基链；

2）基于相对分子质量为500的成分。

总的说来，细胞间的脂质薄层结构严密，非常的稳定，它组成了一个卓有成效的屏障来阻止化学成分的透过。有关角质层中的脂质结构的大量信息已经由 Bouwstra Ponec

Y

和同事利用X射线衍射和透射电子显微镜观察得到。这些信息和早先的研究表明，角质层中的脂质薄层平行排列朝向角质层表面，以6.0～6.4mm和13.2～13.4nm的距离重复排列。在更多的对脂质封装的研究中[31]，Leiden小组利用电子衍射评价角质层中的脂质组织，发现虽然大多数脂质在细胞间隙中以结晶态存在，还有一些脂质以较松散凝胶状的六角形排列于角质层的外层。

3. 角质层的屏障性能

对众多药物的皮肤渗透性的系统评价已经证明角质层细胞间的脂质对正常皮肤屏障功能是必不可少的。现已明确肯定透皮的主要途径是通过连续的细胞间的脂质薄层。因此，透皮速度主要依赖于渗透物质的物理化学特性，最重要的是分配进入细胞间的脂质薄层的能力和分子的大小。有三个主要参数能解释不同的药物透皮速率的差异：药物的浓度、药物在载体和角质层之间的分配系数及药物在角质层中的扩散性。药物透过皮肤的速率的对数值与其亲脂性成S形曲线，反映了皮肤对亲脂性和亲水性均有障碍作用。这说明既具有油溶性又具有水溶性的药物能较快地透过皮肤（logP为1～3）。这已经被许多化合物所证实。许多非甾体抗炎药的透皮数据如图1所示[32]。

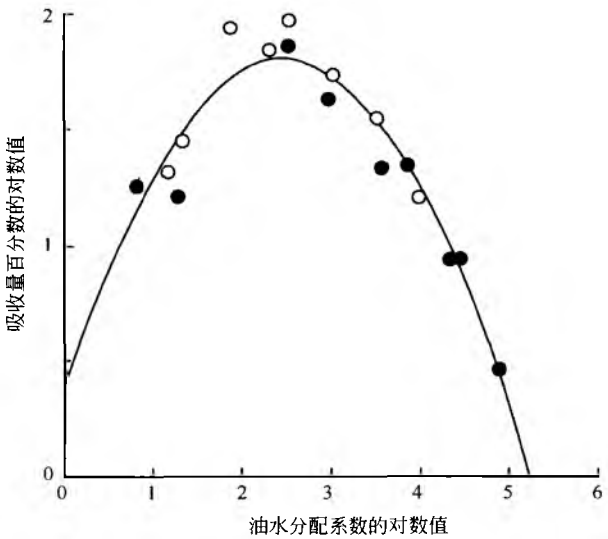


图1 透皮吸收的药物和油水分配系数的关系（增加亲油性）。○水杨酸酯；●其他非甾体抗炎药[32]

4. 透皮的数学预测（适用于一定范围）

数学模型中，外源性药物分子透过皮肤的性能与其物理化学参数、辛醇/水分配系数和相对分子质量（一个替代分子大小的参数）有关，而相似的动物和人的皮肤模型建立在标准化的最优拟合的方程上，

$$\log P_{calc} = A + B\log K_{o/w} + C \cdot M_w$$

式中：P为渗透系数；$K_{o/w}$为o/w的分配系数；M_w为相对分子质量。

不同的A、B和C取决于皮肤种类[33]和使用的数据集[15]。这个模型仅适用于一定的范围内，如分配系数（log$K_{o/w}$为－3～6）和相对分子质量（M_w为18～765），而且可能会有异常值产生。当参数接近临界值时，预测越来越不可靠。例如，利用Vecchia方程[33]预测一个相对分子质量为500和log$K_{o/w}$为6的化合物（新的药物分子和化妆品成分的常见理化性质），将以1.3×10^{-2}cm/h的速度透过人的皮肤，其远大于水或甲醇的透过速度。另外，当这些药物模型以水溶液为溶剂进行实验时，预测的准确性与处方的真实透过量仍有相当的距离。例如，预测N-亚硝基二乙醇胺的渗透系数为1.5×10^{-4}cm/h，而从豆蔻酸酯中的实际测定值是3.5×10^{-3}cm/h[34]。辛基水杨酸盐的预计值是1.35×10^{-7}cm/h，而从含水酒精洗液中的测定值是4.7×10^{-6}cm/h（不确定的剂量）和6.6×10^{-7}cm/h（确定的剂量），在水包油的乳剂中是1.7×10^{-5}cm/h（不确定的剂量）和6.6×10^{-7}cm/h（确定的剂量）[35]。

数据库不断累积，预测方法也在逐步完善。然而，当比较性质相近的化合物的透皮行为时数学预测可能会有效，但用于有风险的评估或处方优化时不进行实验验证不太合适。

透皮促渗剂

皮肤外用和透皮给药系统的成功取决于药物能否以有效剂量进入或透过皮肤来达到治疗浓度。在过去的20多年里，已经设计、合成和评价了一些透皮促渗剂[1,2]。许多透皮促渗剂包括Azone®（氮酮，1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮）和SEPA®（2-n-壬烷基-1，3-二氧戊环）已经在别处很好地讨论过[36]。新的透皮促渗剂包括1-［2-（癸硫基）乙基］吡咯烷-2-酮（HPE-101），4-癸基唑烷-2-酮（Dermac™SR-38）和十二烷基-N，N-二甲氨基异丙酸酯（DDAIP，NexACT 88）（图2）。

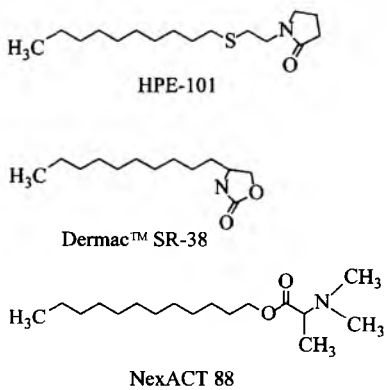


图2 透皮促渗剂HPE-101、Dermac™ SR-38和NexACT 88结构

HPE-101被认为与氮酮具有相似的作用机理，并对使用的载体很敏感[37]。因此，尽管以裸鼠做透皮实验时，这个透皮促渗剂大大增强吲哚美辛在尿中的排泄，但它依赖于使用的载体。当透皮促渗剂加到极性溶剂如双丙二醇、

三甘醇、二甘醇、甘油、水和三乙醇胺中时，增渗比在1.5～67倍变化。然而，当其溶解在更亲脂性的溶剂中时，如乙醇、异丙醇、油醇、十四烷酸异丙酯或异己二醇中，则没有观察到透过增加。这些发现强调介质的最优化不仅应针对药物且也要针对透皮促渗剂。将HPE-101与环糊精联合应用是改善药物透过皮肤的有效方法[38]。但是所有的这些数据，是通过裸鼠或其他的小实验动物的皮肤试验得到的。小实验动物尤其是裸鼠，对透皮转运的增加异常敏感，但是HPE-101对人皮肤的有效性至今没有报道。

Dermac™ SR-38是噁唑烷酮类系列的一个环状的尿烷化合物，可用作透皮促渗剂[39]。这个化合物模仿了自然的皮肤脂质（如*N*-脂酰基（神经）鞘氨醇），因此对皮肤无刺激，吸收之后能经体循环快速消除[40]。在动物和人的安全研究中，皮肤对Dermac™ SR-38的耐受性很好，在1%～10%（*w*/*w*）没有观察到刺激或致敏反应；100%（*w*/*w*）时在家兔上有中度和严重刺激反应，较低的急性毒性［LD_{50}（口服给药）＞5.0g/kg］。此化合物在皮肤外用透皮给药系统中能增加众多药物的人体皮肤透过量。药物米诺地尔的研究资料表明，透过量与透皮促渗剂的浓度相关。Dermac™ SR-38还可以增加维A酸乳膏中的维甲酸和水溶性乳膏中二羟基丙酮在皮肤中的保留[41]。

NexACT 88（十二烷基-*N*，*N*-二甲氨基异丙酸酯，DDAIP）是二甲氨基烷羧酸酯系列中的一个化合物，据报道此类化合物可以生物降解，能开发成无毒的透皮促渗剂[42]。许多早期的实验工作是用蛇皮完成的，通过这个模型发现大多数这类化合物促渗效果与氮酮相当或比其更好。利用人皮肤进行的研究表明，十二烷基-*N*，*N*-二甲氨基乙酸酯（DDAA）对盐酸普萘洛尔和索他洛尔的促渗效果比氮酮要好[43]。对这个化合物结构优化得到DDAIP[44]，它比DDAA的促渗效果更好。作用机理的研究表明，DDAIP在角质层脂质的分配与DDAA不同，某些相互作用可能增加了透皮效果，除对角质层脂质的影响之外，DDAIP可能与角蛋白有相互作用并增加角质层的水化。

还有一些化合物已经被确认，并评价其作为透皮促渗剂的可能性。但是这些资料很有限，为完整起见在这里略提一下这些可能的透皮促渗剂。合成的可生物降解的脂肪酸酯*N*-（2-羟乙基）-2-吡咯烷酮（癸基和油烯基）作为透皮促渗剂用在裸鼠上[45]，使氢化可的松的透过量提高了2倍；*N*-戊基-*N*-乙酰丙嗪作为透皮促渗剂已经用于人皮肤[46]；一些遮光剂，包括二甲胺基苯甲酸戊酯、水杨酸辛酯和甲氧肉桂酸辛酯作为透皮促渗剂已经获得了一定的成功[47]。表2列出了一些最新的与透皮促渗剂有关的专利。

表2 最新的与透皮促渗剂有关的专利

专利号	透皮促渗剂	申请人
DE 19646050	新橙皮碱双氢查耳酮	Labtec
WO 9818417	乳酸盐的脂肪酸酯	Theratech
WO 9817315	聚乙烯二醇单烷基醚	Alza
EP 98480674900	巴豆酰乙基邻甲苯胺	Lab D'Hygiene et de Dietetique
EP 98440792145	乙酰丙酸	Lohmann
EP 98270665755	聚葡糖酸甘油酯	SmithKline Beecham
US 5723114	质子泵抑制剂	Cellegy
US 5814599	超声促渗和脂质体	MIT
US 5882676	甾醇和甾醇酯类	
US 5885565	acyl lactylates	Alza
US 5879701	油酸二聚物，新癸酸	Cygnus
US 5942545	二氧戊烷	MacroChem
US 6001375	聚氧乙烯十六（烷）基醚	Gist-brocades
US 6001390	甲基月桂酸，甘油单月桂酸酯	Alza
US 6019988	双重的载体系统	Bristol-Myers Squibb
WO 9922714	烷基-（*N*，*N*-二取代的氨）酯	Nexmed

对皮肤的不良刺激和减少刺激的方法

人的皮肤暴露于含有许多自然和合成的化合物环境中时，会不可避免地与这些化合物发生有意的或无意的接触，许多化合物可以产生不良的皮肤反应，如刺激和致敏反应。

与化学物质接触的不良皮肤反应是多种多样的，这些反应可能会立即发生或延迟发生，长时间或短时期作用。它们分为刺激反应或致敏反应。皮肤外用和透皮给药的处方中包含有效和非有效成分，需要认识到不良反应可能是处方中的一个添加剂（赋形剂），而不一定是一个有效成分引起的。例如，众所周知的透皮给药系统中的压敏胶通常与皮肤密切接触，很可能比药物更容易产生不良的皮肤刺激反应。更复杂的是，在皮肤剂型中许多非有效成分能够改变皮肤的屏障性质，不仅提高了处方成分的经皮转运，而且增加了随后接触的经皮转运，无论是否有意或无意。

急性的毒性接触性皮炎可能会由一个有毒成分使用一次引起。皮肤的局部炎症反应表现为红斑和浮肿。这种反应发生在皮肤与酸、碱、溶剂和清洁剂接触之后，很少与局部使用药物或化妆品有关。相反，刺激性的接触性皮炎（一个非免疫的表面反应）可能是与多种物质重复地接触引起的，包括局部给药。通常这些反应局限在接触部位，并随着刺激物的移走而减少。有些物质在初次皮肤给药时可能会引起免疫反应，进一步的接触可能会导致炎症性的免疫反应、变应性接触性皮炎或致敏反应。

致敏反应主要分为两种：速发型过敏反应和迟发型过

Y

敏反应。速发型过敏反应是抗体-抗原在皮肤上相互作用的结果，这种反应通常叫做接触过敏性荨麻疹；迟发型过敏反应是细胞介导的免疫性反应，如频繁报道的局部给药的副反应。表皮细胞和真皮细胞都在刺激和致敏反应中起关键的作用。活性表皮中的角化细胞合成和分泌促炎症反应的介质，和激活生化反应炎症产生的细胞活素。血管生成素也可能在炎症反应中起作用，尽管新血管形成抑制剂可能会调节刺激反应，但是这个假设还没有得到充分研究，而且离商业化尚有很远的距离。

在接触皮肤的化合物可能引起不良皮肤反应之前，它首先得进入并透过角质层。许多减少不良反应的方法是通过减少或改变这个过程来实现的。

1. 药物在皮肤上的保留（减少透过）

众所周知，药物透过皮肤的动力是药物的浓度，更精确地说是药物在供给载体中的热力学活性。热力学活性是药物在供给载体中浓度的反映，与药物在此种媒介的饱和溶解度有关。药物越接近饱和浓度，热力学活性越高，越容易从载体中脱离。这个原理已经被广泛应用在药物处方上以提高药物的经皮吸收，但是很少用于减少吸收。这不奇怪，因为在大多数情况下是通过增加药物的转运来达到治疗目的。但是在有些情况下，需要将药物留在皮肤上，或者在皮肤角质层的外层之内（例如，驱虫剂和遮光剂），通过载体热力学活性方法是可行的。

利用物理障碍，如保护性乳膏和高分子材料延迟透过也很方便。有证据说明，润肤膏可作为有效的皮肤屏障，虽然迄今为止报道的结果有些不同和相互矛盾[48]。然而，最近有确定的资料表明包含5%有机黏土-18皂土的外用洗液在减少毒叶藤和槲叶毒葛引起的变应性接触性皮炎时极其有效[49]。其他的一些高分子材料被设计作为相容的皮肤阻隔材料。它们包括polyolprepolymer［Penederm公司（Bertek Pharmaceuticals）］和Macro-Derms™（MacroChem Corp.）。这两种类型的聚合物材料都可以减少刺激物的透过量。

Polyolprepolymer的产品正用于一些化妆品、OTC和局部使用的处方药。大量毒理学的研究表明此聚合物在使用时是安全的。Polyolprepolymers是聚烷烯醇基的聚氨酯，有三个不同的溶解性能和处方特征（PP-2、PP-14和PP-15）的产品。因此，它们常用于各种处方，包括凝胶、洗剂和乳膏剂。通过确切的动物和人的模型表明，polyolprepolymers能够减少类视黄醇对皮肤的刺激。另外，有实验表明，这些聚合物能够改变一些物质在皮肤上的分配，如α羟酸和水杨酸盐。

Macro-Derms的相对分子质量由低到中等（2000～25 000），主要是由聚氧化乙烯和聚氧化丙烯通过烷撑链连接，并经过长的烷基链终止形成的对称聚合物（图3）。生成的嵌段共聚物根据不同比例的聚合链混合产生疏水性或亲水性。Macro-Derm L是亲脂性聚合物，由双单元组成，每个单元由15个聚氧化丙烯分子通过烷撑链连接并经过硬脂酰链终止，它可以减少许多遮光剂和药物活性成分的透过。

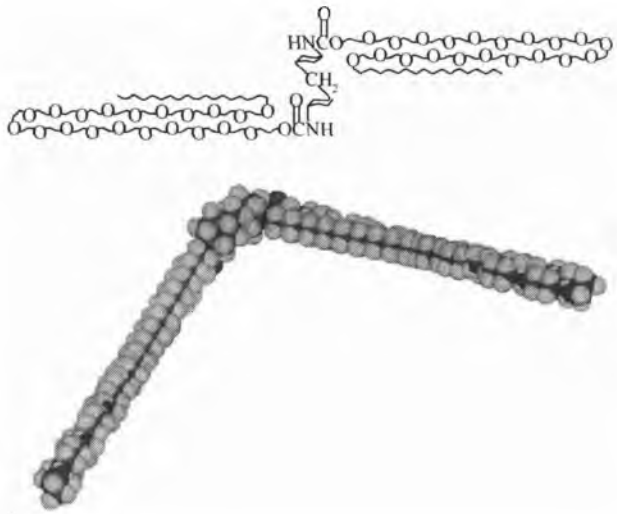


图3 Macro-Derm SA20C的结构（MacroChem Corporation的Dr. S. Krauser供图）

具有更强亲水性的Macro-Derm，由Macro Derm L中的聚氧乙烯链用聚氧化乙烯链替换得到，增加了处方的润湿性。Macro-Derm化合物在选择结合其他物质时的灵活性表明它们容易配伍，可以应用于许多局部给药的处方。考虑到Macro-Derms的结构和其结合组分的性质（以及它们与现有的化合物，如泊洛沙姆及其他非离子型表面活性剂类似），使用这些聚合物不太可能有任何的安全问题。

2. 减少药物在皮肤上扩散（减少透过）

人们发现，透皮促渗剂氮酮（图4）的类似物（N0915）能延迟甲硝唑在人的离体皮肤上的透过，认为是氮酮增加了角质层细胞间的脂质的排列顺序[50]（减少流动性），这在分子水平上提供了一个合理化的机理解释。角质层细胞间的脂质薄层的结构主要依赖于相邻的神经酰胺首基侧向的相互作用。透皮促渗剂，如氮酮，插入这一薄层结构时，在首基的一边只提供一个协作位点，而氮酮类似物N0915，在首基的两面都有协作位点并延迟透过；氮酮类似物N0807，首基两面带有负电位点，比氮酮促渗更加有效。另外，氮酮和氮酮类似物N0807有一个弯曲的首基构造，使组装的烷基链将要分裂，增加了发生透过缺陷的可能性[51]。在专门设计一系列减少皮肤透过的分子中，这些基本理论得到完善。

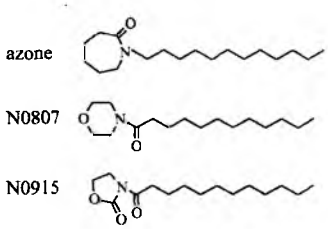


图4 氮酮及其类似物N0807和N0915的结构式

这两个化合物（氮酮类似物 N0807 和 N0915）对氢化可的松和二乙基甲苯酰胺（DEET）[52]的透皮阻滞效应进行实验。图 5 显示这两个化合物可以减少氢化可的松的透过，而氮酮像预期一样稍微增加了药物的透过量。同样的，当氮酮提高避蚊胺的透过时，这两个化合物都减少了其透过量。虽然这些数据初步验证了调节皮肤的基本假设，但把这些化合物作为减少刺激或致敏的可行方法仍有许多工作要做。

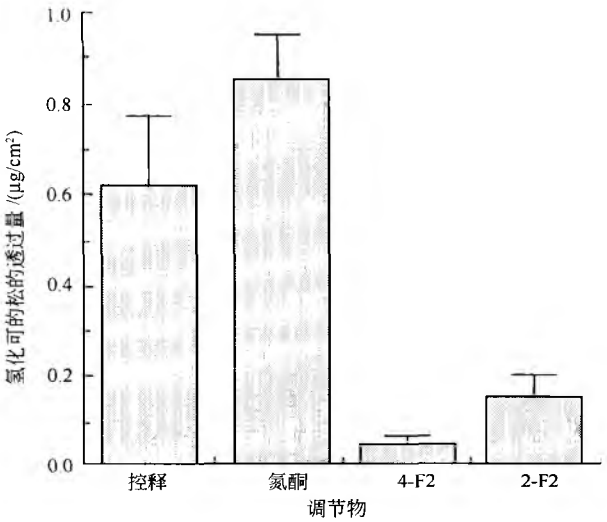


图 5　氮酮和阻透物 4-F2 和 2-F2 对氢化可的松的透皮影响

3. 多种改善皮肤刺激性的方法

许多天然的植物提取物被认为具有抗刺激的性质并推荐用于化妆品处方。这些各种各样的混合物包括茶树油、琉璃苣籽油、巴拉圭茶提取物、可乐果提取物、迷迭香油和熏衣草油。但是植物提取物难以标准化，批与批之间的组分变化相当大。因此，这使任何特有的活性组分的识别和分离变得复杂和费事。这些提取物可能是亲油性的或是亲水性的，含有比如 α-红没药烯、黄嘌呤、多酚和植物固醇等化合物。使用植物提取物来减少刺激和过敏有很大的潜力。这在化妆品行业已有应用，人们希望通过相对固定的栽培技术和更标准化的提取方法以减少提取物成分的变化。

硝酸锶（Cosmederm-7™）可以大大减少由 70%游离羟基乙酸引起的刺激感觉和红斑，它也对组胺引起的搔痒有效。尽管作用方式不清楚，但起作用的可能是自由离子形态的锶元素。通常认为锶能阻止 C 型神经元或损伤感受器的神经源性炎症[53]。有意思的是，锶对损伤感受器的阻断机理也是辣椒素（这种化合物产生红辣椒的“辣”）被认为减轻疼痛的作用机理，如搔痒症、带状疱疹神经痛和糖尿病性神经病变。人们合成了许多辣椒素的类似物，并作为抗炎症的活性成分，取得了不同程度的效果[54]。尽管阻断感觉神经的方法能阻止痛觉，但不能阻止与刺激相关的炎症反应的发生。

一些化合物的混合物，包括油酸、短链醇、乙二醇，用凝胶化的卡波姆后可以减少一些化学物质局部给药产生的炎症（如 Cellegy 的 CELLEDIRM）[55]。这个处方申请了专利，称通过利用油酸和甘油的混合物，在增加透皮的同时减少了皮肤的刺激（例如，与油醇相比较）。在动物模型中，应用 CELLEDIRM 能减少 40%由刺激物或过敏原引起的炎症。CELLEDIRM 之内的所有辅料，或者通过安全认证（GRAS），或者已经用于许多药品或化妆品。Cellegy 公司打算将 CELLEDIRM 应用于一些透皮给药系统。

新型的皮肤用和透皮给药系统

除了传统的皮肤外用和透皮给药制剂，如乳剂、油膏、凝胶和贴剂外，评价的其他一些给药系统正在研究中。在半固体和液体制剂方面，包括喷雾剂、泡沫剂、复合乳剂、微乳、脂质体、传递体、类脂质体、短链醇磷脂脂质体醇质体、环糊精、葡萄糖微球、皮肤的膜结构和微海绵[56~58]，许多这些新颖的给药系统是以囊泡调节给药。新颖的透皮处方包括软贴剂、微针和粉末给药系统。

1. 半固体囊泡给药系统

Mezei 和 Gulasekharam 首先提出脂质体可能是皮肤病的局部治疗的有效药物载体[59]。通过将去炎松缩丙酸酯形成的磷脂脂质体以洗剂或凝胶剂局部给药的药物处置可以看出，去炎松缩丙酸酯制成脂质体后在表皮的浓度是以前的 4.5～4.9 倍。Mezei 的工作说明，与常规制剂相反，皮肤用脂质体制剂，药物更容易进入皮肤和皮下组织，并减少了在血浆和其他远离部位的生物处置。一些验证研究和临床调查给出了这些令人鼓舞的早期观察结果，最引人注目的是 Michigan 大学的 Weiner 小组[60]和在慕尼黑的 Ludwig-Maximilians 大学的 Korting 小组[61]。许多其他的研究表明，磷脂脂质体增加了局部用药物在皮肤中的含量，脂质体的制备也使用类似角质层细胞间的脂质组成的脂质混合物[62]。

研究的另一种潜在改变药物透皮的囊泡系统是类脂质体[63]，它由非离子型表面活性剂（如聚氧乙烯烷基醚）和单室的或多室的囊泡组成。这种非离子型表面活性剂能提高药物的透过量，并在应用这些载体时改变药物的透过。非离子型表面活性剂对雌二醇透皮的效果取决于类脂质体的物理状态。另外，由聚氧化乙烯[3]硬脂酰醚制备并以凝胶状态存在的类脂质体并没有增强雌二醇的透过量，而由聚氧化乙烯[3]-月桂醚和聚氧化乙烯[10]油烯基醚制备的存在于液态结晶态的囊泡类脂质体，大大地提高了透皮转运。通过未载药的类脂质体实验表明，载药雌二醇的囊泡能提高转运并不只是由表面活性剂引起的。作者认为，类脂质体在角质层表面融合，产生高的雌二醇局部浓度，增加了在角质层上层的渗透的热力学活性。

由磷脂、乙醇和水组成的囊泡系统醇质体比起许多传统的处方，提高了米诺地尔和睾酮的透皮转运（图 6）[57]。

Y

在体外裸鼠皮肤实验中，药物从短链醇类脂质体（醇质体）透过远远大于其他对照介质。在兔子的体内实验中，短链醇类脂质体醇质体的贴片比市面上的贴片有更高的睾酮血药浓度。推测其可能的协同作用方式是乙醇破坏了角质层细胞间的脂质，允许柔软的短链醇类脂质体醇质体穿透角质层，随后与皮肤脂质融合并释放药物。作者也指出可能囊泡结构能增加药物的透皮。有趣且重要的是，应用此短链醇类脂质体醇质体（在家兔体内）并没有观察到严重的或累积的刺激反应。

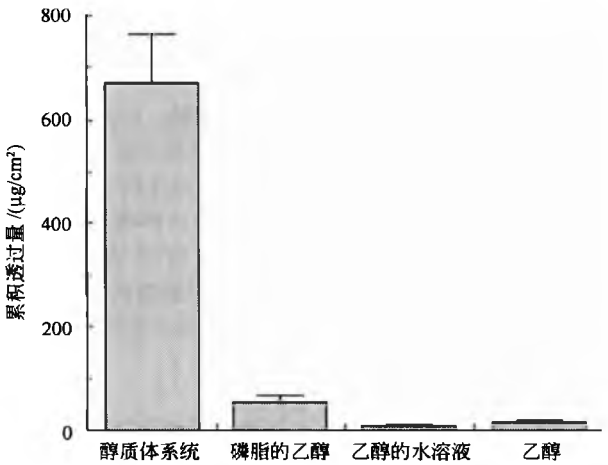


图 6 米诺地尔醇质体和其他相应的对照载体，在雄性裸鼠皮肤的体外 24h 累积透过量[57]

脂质囊泡和皮肤之间确切的相互作用方式仍不清楚，但对整个囊泡能透过完好的角质层有相当多的怀疑。大多数迹象表明，囊泡能穿透角质层外面的细胞层，那里的桥粒的连接被破坏，可能是因为角化细胞的结合不甚紧密，并被细胞间的脂质和皮脂的混合物围绕。然而，囊泡的持续扩散不太可能透过角质层内部约 60nm 的细胞间隙。现代的观点认为，脂质囊泡在角质层的最外层或表面上与内原性的脂质融合。通过冷冻断裂电子显微镜和小角度 X 射线散射技术看到融合后的角质层内层的结构变化。这些结构变化被认为是囊泡脂质成分（非完整的囊泡）通过细胞间的扩散到达角质层内层，或者是与内原性的脂质薄层相互作用并破坏它的结果。可以简单认为对脂质薄层的相互作用/破坏将会导致皮肤透过量增加，但这并不能解释渗透物在皮肤上保留的增加。明显的皮肤保留的增加可能是由皮肤表面外源性的脂质储库的形成造成的假象。另外，角质层深部存在内源性的和外部的脂质混合物的聚集，可能提供了一个局部给药的脂质储库。

然而，Cevc 和 Blume[64]认为，整个脂质囊泡可能透过完整的角质层，只要保证在角质层的内、外层有渗透浓度梯度，而且脂质混合物形成脂质体或传递体。保持浓度梯度说明传递体在封闭的条件下无法转运，并且必须仔细设计处方。因为它们特殊的结构（磷脂酰基胆碱、胆酸钠和乙醇的混合物）传递体是非常柔软的小囊泡，并能通过弯曲的角质层细胞之间转运，皮质激素去炎松缩酮、地塞米松、氢化可的松包入传递体后能更可靠地到达作用位点，产生更小的副作用[65]。

2. 新型的透皮给药系统

在制剂的组成方面，传统的透皮贴剂在过去的几十年里没有大的改变，所做的改变主要在构成的材料上（表 3）。例如，由柔软的薄膜包含一定量的药物组成的软贴剂非常柔顺，并能适应身体上的不同的曲线[66]。

表 3 最新的与透皮有关的专利

专利号	名称	申请人
US 5783208	压敏胶体系	Theratech
WO 9820869	电转运机制	Alza
US 5785688	电机气体发生器	Ceramatec
WO 9737659	结晶抑制	Sano
WO 9813099	离子导入机制	Becton Dickinson
US 5753263	脂质体处方	Anticancer Inc.
WO 9813024	透明质酸	Hyaluronic acid Hyal
US 5843979	减少刺激/过敏	Bristol-Myers Squibb
WO 9832488	减少刺激/过敏	Novartis
EP 98160665745	压敏胶体系	Lohmann
EP 98140716599	结晶抑制	Lohmann
US 5843114	皮肤穿孔装置	Samsung
US 5820875	双重给药速率装置	Cygnus
US 5750138	延缓给药	Westonbridge International
US 5713845	激光辅助给药	ThermoLase
WO 9904838	电磁注射装置	Boehringer Mannheim

透皮吸收的阻碍在于角质层的屏障作用，新的技术尝试通过生成物理的通道（微针）或通过压缩气体进行粉末给药来克服这个阻碍。Alza 公司（Macroflux™）开发了一个含涂有药液的微小突出物阵列的贴剂，能够在角质层上形成微通道[67]。当与电转运系统合用时，Macroflux™ 系统能在体控制释放治疗剂量的反义低聚核苷酸、人生长激素、胰岛素。同样的，Redeon 公司系统由长度仅为150μm，实心或空心的微针组成[68]。Redeon 给药装置可以增加钙黄绿素和牛血清白蛋白数个数量级的透过量（图 7）[69]。

粉末透皮给药利用氦的超声气流加速药物粉末直至能透过角质层[70]。无针注射装置能够无痛地将药物和疫苗给入皮肤。进入体内的药物量取决于药物颗粒的大小、剂量和装置的功率。最近有实验表明，粉末透皮装置能够将降钙素以剂量依赖性（非线性）的模式透过家兔皮肤[71]。用一个相似的装置（Helios™ 喷枪系统）来考察不同粒径大小的左旋含药聚乳酸微球不同给药方式的效果[72]，发现多次少剂量的给药比少次多剂量的给药能得到更好的血药浓度曲线。

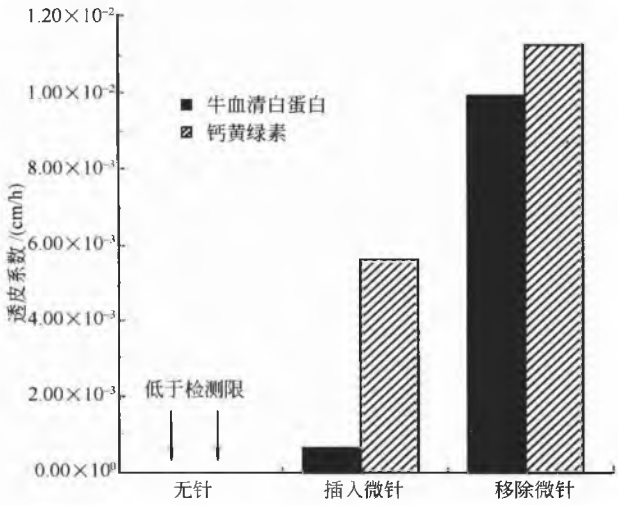


图 7　牛血清白蛋白和钙黄绿素的体外人表皮透过系数，当不用微针时，透过量小于检测限[69]

最新调整的注册法规

1. SUPAC-SS 药物从半固体处方释放

半固体处方释放药物的能力确定释放药物的形式和速度，是处方研究和优化的重要部分。然而对这样的数据也不应过分地解释，释放的研究通常是测定药物从处方中经合成膜溶出到接受介质中的量[73]。对此类实验所得数据的详细分析可以了解处方中药物的物理状态。例如，早期的和改进后的模型揭示了半固体药物的释放类型随着药物在处方中为溶液状或混悬状而变[74]。这些细微的差别还有释放的速率可以用来测定药物在处方中的扩散系数、混悬状药物的粒径大小和药物在处方中的绝对溶解度(图 8)[75,76]。尽管通常认为药物的释放数据不能预测药物的透皮情况和生物利用度，但除了处方的筛选和评价外，释放速度的测定仍很重要。

FDA 曾经发表过一个指导性的文件［SUPAC-SS (Scale-Up and Post Approval Changes)］，非无菌半固体制剂，美国健康和公共事业部，食品药品监督管理局，药品评价和研发中心，1997 年 5 月发表］，建议对半固体制剂的放大生产和批准后的改变进行体外释放测定。当处方成分和生产地点发生微小变化时，FDA 想通过促进体外释放的检测使其成为监控质量的手段，而不是现在常规的每批次的质量控制。因此，FDA 建议对 2 级和 3 级的处方的成分变化用体外释放度来进行检测，而对 1 级的变化则不需要。对于前者，新的或更改后的处方与最近的、原先的处方进行体外释放速率比较，90%的置信区间落在原先释放度的 75%～133%内。同样，对生产设备、工艺、放大生产的 2 级的改变和生产地点的 3 级的改变需要用体外的释放度检测。最近，体外释放检测作为质量保证的方法受到质疑，特别是对含有水溶性较高的乳酸胺[77]药物的亲水性处方，发现这个方法并不能准确地检测载药量或成分和工艺的微小变化。

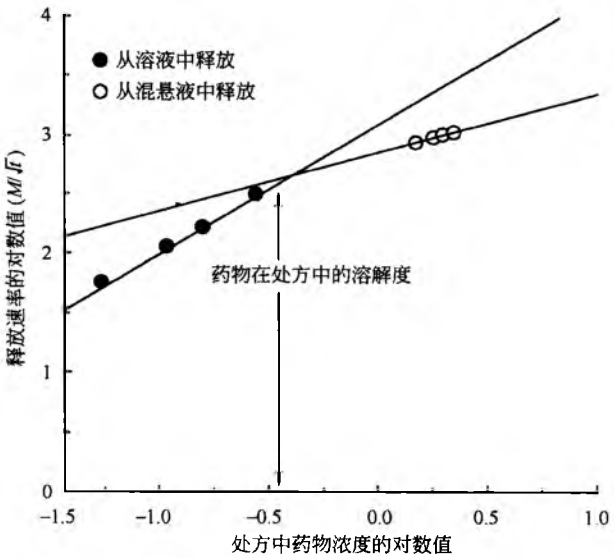


图 8　通过半固体剂型释放速率确定处方中药物的溶解度，图上数据显示了苯佐卡因从丙烯乙二醇/水凝胶中释放的速率对药物在处方中的浓度的变化[75]

2. 皮肤用制剂的生物等效性

实际上，因为皮肤用药的血药浓度相当低，透皮制剂的生物等效性很难被检测到。FDA 提出用其他方法，包括胶带剥离的方法来检测皮肤的药代动力学。AAPS/FDA 的研讨会的主题就是在体剥离皮肤进行透皮制剂的生物等效性药代动力学实验（Bethesda，MD，1996 年 9 月）。尽管意见有一点分歧，但离体皮肤角质层“可能为相对评价皮肤用制剂提供了有意义的数据”[78]。更重要的是，皮肤药动学和药效学数据可以提供足够的“替代临床实验”生物等效性的证据。然而需要很多的工作来验证离体皮肤实验的有效性。在体胶带剥离的方法建立在 Rougier[79]提出的皮肤储库的原理上，其假设如果药物放在皮肤上一段时间后移开，在角质层上层的药物量可以预测药物的整个生物利用度。短时间在皮肤上进行相应的给药后，通过角质层的药物的含量可以预测出药物在体内的生物利用度。用这种方法对一些药物进行透皮预测比较合理。

已经提出了通过皮肤剥离进行生物等效性实验的框架[78]。基本的方案包括两相：吸收相和消除相。

2.1　吸收相

(1) 同时在多个部位应用药物和对照品。

(2) 在接触了合适的时间后（由预实验决定），用海绵或软布将多余的药物擦除三次将药物移去。

(3) 对胶带施以相同的压力，丢掉剥离的第一层（皮肤表面材料），如果有必要需重复几次，以确保除去多余的表面物质。

Y

(4) 在同一个地点连续收集 9 次从皮肤上剥离的胶带，如果有必要，收集更多次。

(5) 在固定好的时间间隔内对每个部位进行同样的操作。

(6) 在每个时间点和部位从胶带中提取药物，用合适的分析方法测出药物含量。

(7) 以每平方厘米胶带药物的含量表示。

2.2 消除相

(1) 重复 2.1 节“吸收相”中的 (1)、(2)、(3)。

(2) 在预定好的时间后（例如，1h、3h、5h 和 21h 后将药物移走），开始 2.1 节“吸收相”步骤的 (4) ～ (7)。

生物等效性的结果由随着时间变化从剥离的胶带层中洗脱出来的药物含量来表达。吸收相和消除相如图 9 所示，生物利用度也可以通过血药浓度曲线下的面积来预测。在这个研究的 SOP 中有几个变量必须考虑，主要是如下几个：

(1) 给药的步骤；
(2) 胶带的种类；
(3) 胶带的大小；
(4) 实验人员给胶带的压力；
(5) 压力的持续时间；
(6) 移除药物的步骤；
(7) 药物提取的过程；
(8) 分析方法；
(9) 温度；
(10) 相对湿度；
(11) 皮肤种类；
(12) 皮肤表面均一性。

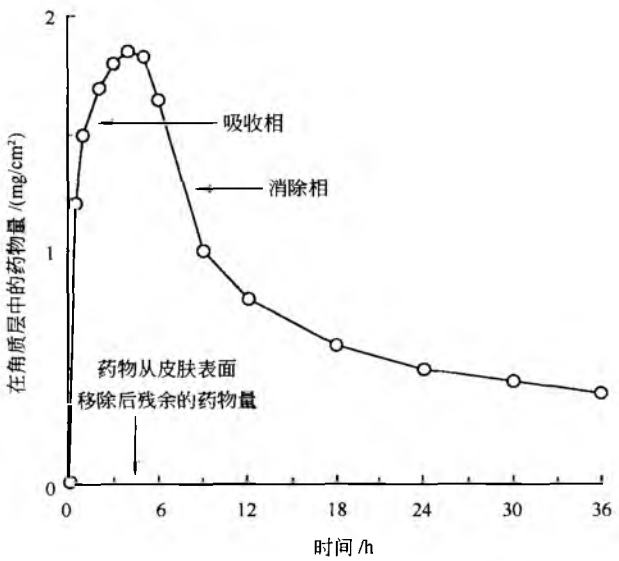


图 9 理想局部给药的化合物皮肤药代模型，包括吸收相和消除相，在角质层的药物量由每次剥离胶带上的药物总量决定

其他的参数[80]，包括产品的载体成分，对胶带的黏附特性也有不同影响。除此之外，因为皮肤药动学的生物等效性实验主要在正常的志愿者身上完成，所以得到的数据与药物在患者角质层上的分布有较大的差异。但是根据后来实验的验证，发现这个方法有一些优点，如通过这个方法测得的基本的药代动力学参数，如 AUC、C_{max}、T_{max} 和半衰期，与实验数据相似。另外，这个方法能用于所有的皮肤制剂。

近来，Pershing[81]综述了许多经典的在体皮肤剥离技术，一些影响因素，如测试区域的解剖学部位、实验人员个体的操作技术、黏附系统和给药剂量、给药情况还有移除技术均被讨论。总结出“仔细验证完全移除了皮肤上残余的药物，收集剥离的皮肤样品和灵敏的检测方法是恰当解释实验结果的关键”[81]。更多的皮肤用药物的生物等效性的指导原则的细节，包括实验计划，均来自 FDA 草拟的指导文件（《皮肤用药的新药申请和简化新药申请——体内生物利用度、生物等效性、体外释放及其相关研究》，美国健康和公共事业部，药品评价和研发中心，1998 年 6 月）。

结语

本章的标题，“药物输送——局部和透皮给药”，描述了药剂学这个领域近 30 年来的快速发展。例如，Starship 公司仅仅几年前刚研发了非注射的免疫经皮接种。现在，此技术我们已经可以应用了[82]。因为本书篇幅有限，所以未能将所有最新的发展情况列出，仅挑选了我最感兴趣的一些内容。为了弥补缺憾，我提供了一个相对完整的参考书目，希望能帮助想深入了解的读者寻找到与其有关的最新文献。因为皮肤的天然性质，无论是治疗皮肤疾病或是透过皮肤进行全身治疗，局部给药都是吸引我们的话题。随着我们对皮肤这个独特的器官的分子生物学了解得越多，当透皮给药遇到问题时，我们可以更好地解决它。同样的，对皮肤屏障的形态学的更深入的了解，使我们可以更好地发现增加透过皮肤的方法。这些是基础内容，并且我们知识的扩充将有利于提高我们作为药剂研发人员的能力。在本章我介绍了角质层研究的最新发展情况和一些改变角质层独特的内在屏障性质的促透方法，还有减少皮肤的不良反应的方法，同时我也介绍了新型给药系统，以及让制药行业更容易发展的最新调整的研发条例。我希望我的研究能给药剂工作者提供一些经验之谈，给有经验的皮肤用处方研究人员在皮肤用产品开发方面提供一些新的启示。

参考文献

1. Walters, K. A., Hadgraft, J., Eds. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993.
2. Smith, E. W., Maibach, H. I., Eds. Percutaneous Penetration Enhancers; CRC Press: Boca Raton FL, 1995.
3. Schaefer, H., Redelmeier, T. E., Eds. Skin Barrier. Principles of Percutaneous Absorption; Karger: Basel, 1996.
4. Ghosh, T. K., Pfister, W. R., Yum, S. I., Eds. Trans-

dermal and Topical Drug Delivery Systems; Interpharm Press: Buffalo Grove, 1997.
5. Banga, A. K. Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery; Taylor & Francis: London, 1998.
6. Roberts, M. S., Walters, K. A., Eds. Dermal Absorption and Toxicity Assessment; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998.
7. Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds. Percutaneous Absorption, Drugs, Cosmetics, Mechanisms, Methodology, 3rd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
8. Loden, M., Maibach, H. I., Eds. Dry Skin and Moisturizers. Chemistry and Function; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000.
9. Kydonieus, A. F., Wille, J. J., Eds. Biochemical Modulation of Skin Reactions, Transdermals, Topicals, Cosmetics; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000.
10. Lai, P. M.; Roberts, M. S. Iontophoresis. Dermal Absorption and Toxicity Assessment; Roberts, M. S., Walters, K. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 371—414.
11. Kost, J.; Mitragotri, S.; Langer, R. Phonophoresis. Percutaneous Absorption, Drugs, Cosmetics, Mechanisms, Methodology, 3rd Ed.; Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 615—631.
12. Guy, R. H.; Kalia, Y. N.; Delgado-Charro, M. B.; Merino, V.; López, A.; Marro, D. Iontophoresis Electrorepulsion and Electroosmosis. J. Controlled Release 2000, 64, 129—132.
13. Ilic, L.; Gowrishankar, T. R.; Vaughan, T. E.; Herndon, T. O.; Weaver, J. C. Spacially Constrained Skin Electroporation with Sodium Thiosulfate and Urea Creates Transdermal Microconduits. J. Controlled Release 1999, 61, 185—202.
14. Lombry, C.; Dujardin, N.; Préat, V. Transdermal Delivery of Macromolecules Using Skin Electroporation. Pharm. Res. 2000, 17, 32—37.
15. Pugh, W. J.; Hadgraft, J.; Roberts, M. S. Physicochemical Determinants of Stratum Corneum Permeation. Dermal Absorption and Toxicity Assessment; Roberts, M. S., Walters, K. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 245—268.
16. Roberts, M. S.; Anissimov, Y. G.; Gonsalvez, R. A. Mathematical Models in Percutaneous Absorption. Percutaneous Absorption, Drugs, Cosmetics, Mechanisms, Methodology, 3rd Ed.; Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 3—55.
17. Eckert, E. L. Structure, Function, and Differentiation of the Keratinocyte. Physiol. Rev. 1989, 69, 1316—1346.
18. Dinarello, C. A. Interleukin-1 Receptors and Signal Transduction. Biochemical Modulation of Skin Reactions; Kydonieus, A. F., Wille, J. J., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000; 173—187.
19. Kondo, S. The Roles of Keratinocyte-Derived Cytokines in the Epidermis and their Possible Responses to UVA-Irradiation. J. Invest. Dermatol. Symp. Proc. 1999, 4, 177—183.
20. Landmann, L. The Epidermal Permeability Barrier. Anat. Embryol. 1988, 178, 1—13.
21. Wertz, P. W.; Downing, D. T. Glycolipids in Mammalian Epidermis Structure and Function in the Water Barrier. Science 1982, 217, 1261—1262.
22. Wertz, P. W.; Downing, D. T.; Freinkel, R. K.; Traczyk, T. N. Sphingolipids of the Stratum Corneum and Lamellar Granules of Fetal Rat Epidermis. J. Invest. Dermatol. 1984, 83, 193—195.
23. Menon, G. K.; Feingold, K. R.; Elias, P. M. Lamellar Body Secretory Response to Barrier Disruption. J. Invest. Dermatol. 1992, 98, 279—289.
24. Nemes, Z.; Steinert, P. M. Bricks and Mortar of the Epidermal Barrier. Exp. Mol. Med. 1999, 31, 5—19.
25. Lazo, N. D.; Meine, J. G.; Downing, D. T. Lipids are Covalently Attached to Rigid Corneocyte Protein Envelopes Existing Predominantly as b-Sheets a Solid-State Nuclear Magnetic Resonance Study. J. Invest. Dermatol. 1995, 105, 296—300.
26. Downing, D. T.; Lazo, N. D. Lipid and Protein Structures in the Permeability Barrier. Dry Skin and Moisturizers; Loden, M., Maibach, H. I., Eds.; CRC Press, Boca Raton, FL, 2000; 39—44.
27. Behne, M.; Uchida, Y.; Seki, T.; Ortiz de Montellano, P.; Elias, P. M.; Holleran, W. M. Omega-Hydroxyceramides are Required for Corneocyte Lipid Envelope (CLE) Formation and Normal Epidermal Permeability Barrier Function. J. Invest. Dermatol. 2000, 114, 185—192.
28. Suhonen, T. M.; Bouwstra, J. A. Urti, A. Chemical Enhancement of Percutaneous Absorption in Relation to Stratum Corneum Structural Alterations. J. Controlled Release 1999, 59, 149—161.
29. Wertz, W. P.; Miethke, M. C.; Long, S. A.; Strauss, J. S.; Downing, D. T. The Composition of the Ceramides from Human Stratum Corneum and from Comedones. J. Invest. Dermatol. 1985, 84, 410—412.
30. Stewart, M. E.; Downing, D. T. A New 6-Hydroxy-4-Sphingenine-Containing Ceramide in Human Skin. J. Lipid. Res. 1999, 40, 1434—1439.
31. Pilgram, G. S. K.; Engelsma-van Pelt, A. M.; Bouwstra, J. A.; Koerten, H. K. Electron Diffraction Provides New Information on Human Stratum Corneum Lipid Organ-

Y

Y

ization Studied in Relation to Depth and Temperature. J. Invest. Dermatol. 1999, 113, 403—409.

32. Yano, T.; Nakagawa, A.; Masayoshi, T.; Noda, K. Skin Permeability of Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs in Man. Life Sci. 1986, 39, 1043—1050.
33. Vecchia, B. E.; Stephens, K. R.; Bunge, A. L. Comparison of Permeability Coefficients for Excised Skin from Humans and Animals. Pharm. Res. 1998, 15, S—380.
34. Franz, T. J.; Lehman, P. A.; Franz, S. F.; North-Root, H.; Demetrulias, J. L.; Kelling, C. K.; Moloney, S. J.; Gettings, S. D. Percutaneous Penetration of N-Nitroso-Diethanolamine through Human Skin (In Vitro) Comparison of Finite and Infinite Dose Application from Cosmetic Vehicles. Fundam. Appl. Toxicol. 1993, 21, 213—221.
35. Walters, K. A.; Brain, K. R.; Howes, D.; James, V. J.; Kraus, A. L.; Teetsel, N. M.; Toulon, M.; Watkinson, A. C.; Gettings, S. D. Percutaneous Penetration of Octyl Salicylate from Representative Sunscreen Formulations through Human Skin In Vitro. Fd. Chem. Toxicol. 1997, 35, 1219—1225.
36. Gauthier, E. The Dioxolanes A New Class of Percutaneous Absorption Enhancers; Ph. D. Thesis, University of Paris, XI, 2000.
37. Yano, T.; Higo, N.; Fukuda, K.; Tsuji, M.; Noda, K.; Otagiri, M. Further Evaluation of a New Penetration Enhancer, HPE-101. J. Pharm. Pharmacol. 1992, 45, 775—778.
38. Adachi, H.; Irie, T.; Uekama, K.; Manako, T.; Yano, T.; Saita, M. Combination Effects of O-Carboxymethyl-O-Ethyl-β-Cyclodextrin and Penetration Enhancer HPE-101 on Transdermal Delivery of Prostaglandin E_1 in Hairless Mice. Eur. J. Pharm. Sci. 1993, 1, 117—123.
39. Rajadhyaksha, V. J. Oxalodinone Penetration Enhancing Compounds, US Patent 4, 960, 771, 1990
40. Pfister, W. R.; Rajadhyaksha, V. J. Oxazolidinones. A New Class of Cyclic Urethane Transdermal Enhancer (CUTE). Proc. Intl. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1997, 24, 709—710.
41. Pfister, W. R.; Rajadhyaksha, V. J. Oxazolidinones A New Class of Cyclic Urethane Transdermal Enhancer (CUTE). Pharm. Res. 1995, 12, S280.
42. Wong, O.; Huntington, A.; Nishihata, T.; Rytting, J. H. New Alkyl N, N-Dialkyl-Substituted Amino Acetates as Trans-Dermal Penetration Enhancers. Pharm. Res. 1989, 6, 286—295.
43. Wongpayapkul, L.; Chow, D. Comparative Evaluation of Various Enhancers on the Transdermal Permeation of Propranolol Hydrochloride. Pharm. Res. 1991, 8, S140.
44. Büyüktimkin, S.; Büyüktimkin, N.; Rytting, J. H. Synthesis and Enhancing Effect of Dodecyl 2- (N, N-Dimethylamino) Propionate (DDAIP) on the Transepidermal Delivery of Indomethacin, Clonidine, and Hydrocortisone. Pharm. Res. 1993, 10, 1632—1637.
45. Lambert, W. J.; Kudla, R. J.; Holland, J. M.; Curry, J. T. A Biodegradable Transdermal Penetration Enhancer Based on N- (2-Hydroxyethyl) -2-Pyrrolidone I. Synthesis and Characterization. Int. J. Pharm. 1993, 95, 181—192.
46. Harris, W. T.; Tenjarla, S. N.; Holbrook, J. M.; Smith, J.; Mead, C.; Entrekin, J. N-Pentyl N-Acetylprolinate a New Skin Penetration Enhancer. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 640—642.
47. Morgan, T. M.; O'Sullivan, H. M. M.; Reed, B. L.; Finnin, B. C. Transdermal Delivery of Estradiol in Postmenopausal Women with a Novel Topical Aerosol. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 1226—1228.
48. Pigatto, P. D.; Bigardi, A. S.; Legori, A.; Altomorare, F. G.; Finzi, A. F. Are Barrier Creams any Use in Contact Dermatitis? Contact. Dermatitis. 1992, 26, 197—198.
49. Marks, J. G.; Fowler, J. F.; Sherertz, E. F.; Rietschel, R. L. Prevention of Poison Ivy and Poison Oak Allergic Contact Dermatitis by Quaternium-18 Bentonite. J. Am. Acad. Dermatol. 1995, 33, 212—216.
50. Hadgraft, J.; Peck, J.; Williams, D. G.; Pugh, W. J.; Allan, G. Mechanism of Action of Skin Penetration Enhancers/ Retarders Azone and Analogues. Int. J. Pharm. 1996, 141, 17—25.
51. Brain, K. R.; Walters, K. A. Molecular Modeling of Skin Permeation Enhancement by Chemical Agents. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement; Walters, K. A., Hadgraft, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1993; 389—416.
52. Brain, K. R.; Green, D. M.; James, V. J.; Walters, K. A.; Watkinson, A. C.; Allan, G.; Hammond, J. Preliminary Evaluation of Novel Penetration Retarders. Prediction of Percutaneous Penetration; Brain, K. R., James, V. J., Walters, K. A., Eds.; STS Publishing: Cardiff, 1996; 4b, 131—132.
53. Hahn, G. S. Strontium is a Selective and Potent Inhibitor of Sensory Irritation (Itch, Burn and Sting) and Neurogenic Inflammation. Perspectives in Percutaneous Penetration; Brain, K. R., Walters, K. A., Eds.; STS Publishing: Cardiff, 2000; 7a, 10.
54. Janusz, J. M.; Buckwalter, B. L.; Young, P. A.; LaHann, T. R.; Farmer, R. W.; Kasting, G. B.; Loomans, M. E.; Kerckaert, G. A.; Maddin, C. S.; Berman, E. F.; Bohne, R. L.; Cupps, T. L.; Milstein, J. R. Vanilloids. 1. Analogs of Capsaicin with Antinociceptive and Antiinflammatory Activity. J. Med. Chem. 1993, 36, 2595—2604.

55. Thornfeldt, C. R.; Elias, P. M.; Grayson, S. US Patent 5, 723, 114, 1998.
56. Rogers, K. Controlled Release Technology and Delivery Systems. Cosmet. Toiletries 1999, 114 (5), 53—60.
57. Touitou, E.; Dayan, N.; Bergelson, L.; Godin, B.; Eliaz, M. Ethosomes—Novel Vesicular Carriers for Enhanced Delivery: Characterization and Skin Penetration Properties. J. Controlled Release 2000, 65, 403—418.
58. Tao, L. Skin Delivery from Lipid Vesicles. Cosmet. Toiletries 2000, 115 (4), 43—50.
59. Mezei, M.; Gulasekharam, V. Liposomes—A Selective Drug Delivery System for the Topical Route of Administration Lotion Dosage Forms. Life Sci. 1980, 26, 1473—1477.
60. du Plessis, J.; Ramachandran, C.; Weiner, N.; Müller, D. G. The Influence of Particle Size of Liposomes on the Deposition of Drug into Skin. Int. J. Pharm. 1994, 103, 277—282.
61. Schmid, M. H.; Korting, H. C. Therapeutic Progress with Topical Liposome Drugs for Skin Disease. Adv. Drug Delivery. Rev. 1996, 18, 335—342.
62. Fresta, M.; Puglisi, G. Corticosteroid Dermal Delivery with Skin-Lipid Liposomes. J. Controlled Release 1997, 44, 141—151.
63. Schreier, H.; Bouwstra, J. Liposomes and Niosomes as Topical Drug Carriers: Dermal and Transdermal Drug Delivery. J. Controlled Release 1994, 30, 1—15.
64. Cevc, G.; Blume, G. Lipid Vesicles Penetrate into Intact Skin Owing to the Transdermal Osmotic Gradients and Hydration Force. Biochim. Biophys. Acta. 1991, 1104, 226—232.
65. Cevc, G.; Blume, G.; Schätzlein, A. Transfersomes-Mediated Transepidermal Delivery Improves the Regio-Specificity and Biological Activity of Corticosteroids In Vivo. J. Controlled Release 1997, 45, 211—226.
66. Csóka, G.; Dredán, J.; Marton, S.; Antal, I.; Rácz, I. Evaluation of Different Mathematical Methods Describing Drug Liberation from New, Soft-Patch Type Matrix Systems. Pharm. Dev. Technol. 1999, 4, 291—294.
67. Daddona, P. E. Minimally Invasive Transdermal Drug Delivery. Perspectives in Percutaneous Penetration; Brain, K. R., Walters, K. A., Eds.; STS Publishing: Cardiff, 2000; 7a, 5.
68. Henry, S.; McAllister, D. V.; Allen, M. G.; Prausnitz, M. R. Microfabricated Microneedles A Novel Approach to Transdermal Drug Delivery. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 922—925.
69. Prausnitz, M. R.; Allen, M. G.; Davis, S.; Kaushik, S.; Jett, E.; Kaye, S.; McAllister, D. V. Microfabricated Microneedles for Transdermal Drug Delivery. Perspectives in Percutaneous Penetration; Brain, K. R., Walters, K. A., Eds.; STS Publishing: Cardiff, 2000; 7a, 4.
70. Sarphie, D. F.; Johnson, B.; Cormier, M.; Burkoth, T. L.; Bellhouse, B. J. Bioavailability Following Transdermal Powdered Delivery (TPD) of Radiolabeled Insulin to Hairless Guinea Pigs. J. Controlled Release 1997, 47, 61—69.
71. Sweeney, P. A.; Topham, S. J.; Zuurbier, R. J.; McCrossin, L. E.; Muddle, A. G.; Longridge, D. J. Effects of Dose Escalation on Dermal Powderject® Delivery of Salmon Calcitonin to Conscious Rabbits. Proc. Intl. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mater. 1999, 26, 188—189.
72. Uchida, M.; Natsume, H.; Kobayashi, D.; Morimoto, Y. Effect of Dose, Particle Size and Helium Gas Pressure on Transdermal Powder Delivery by HeliosTM Gun System. Proc. Intl. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mater. 1999, 26, 483—484.
73. Chattaraj, S. C.; Kanfer, I. Release of Acyclovir from Semi-Solid Dosage Forms A Semi-Automated Procedure Using a Simple Plexiglass Flow-Through Cell. Int. J. Pharm. 1995, 125, 215—222.
74. Bunge, A. L. Release Rates from Topical Formulations Containing Drugs in Suspension. J. Controlled Release 1998, 52, 141—148.
75. Caetano, P. A.; Flynn, G. L.; Farinha, A. R.; Toscano, C. F.; Campos, R. C. The In Vitro Release Test as a Means to Obtain the Solubility and Diffusivity of Drugs in Semisolids. Proc. Intl. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mater. 1999, 26, 375—376.
76. Flynn, G. L.; Shah, V. P.; Tenjarla, S. N.; Corbo, M.; DeMagistris, D.; Feldman, T. G.; Franz, T. J.; Miran, D. R.; Pearce, D. M.; Sequeira, J. A.; Swarbrick, J.; Wang, J. C. T.; Yacobi, A.; Zatz, J. L. Assessment of Value and Applications of In Vitro Testing of Dermatological Drug Products. Pharm. Res. 1999, 16, 1325—1330.
77. Kril, M. B.; Parab, P. V.; Genier, S. E.; DiNunzio, J. E.; Alessi, D. Potential Problems Encountered with SUPACSS and the In Vitro Release Testing of Ammonium Lactate Cream. Pharm. Tech. 1999 (March), 164—174.
78. Shah, V. P.; Flynn, G. L.; Yacobi, A.; Maibach, H. I.; Bon, C.; Fleischer, N. M.; Franz, T. J.; Kaplan, S. A.; Kawamoto, J.; Lesko, L. J.; Marty, J-P.; Pershing, L. K.; Schaefer, H.; Sequeira, J. A.; Shrivastava, S. P.; Wilkin, J.; Williams, R. L. AAPS/FDA Workshop Report Bioequivalence of Topical Dermatological Dosage Forms-Methods of Evaluation of Bioequivalence. Pharm. Res. 1998, 15, 167—171.
79. Rougier, A.; Dupuis, D.; Lotte, C.; Maibach, H. I.

Y

Y

Stripping Method for Measuring Percutaneous Absorption in vivo. Percutaneous Absorption, 3rd Ed.; Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 375—394.

80. Surber, C.; Schwarb, F. P.; Smith, E. W. Tape-Stripping Technique. Percutaneous Absorption, 3rd Ed.; Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999, 395—409.
81. Pershing, L. K. Dermatopharmacokinetics for Assessing Bioequivalence of Topically Applied Products in Human Skin. Cosmet. Toiletries 2000, 115 (5), 43—51.
82. O'Farrel, C. Transcutaneous Immunization More Effective Non-Invasive Vaccines. Inn. Pharm. Tech. 2000, (1), www.iptonline.com.

参考书目

Banga, A. K. Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery; Taylor & Francis: London, 1998.

Barry, B. W. Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1983.

Brain, K. R., James, V. J., Walters, K. A., Eds. Prediction of Percutaneous Penetration; STS Publishing: Cardiff, 1993; 3b.

Brain, K. R., James, V. J., Walters, K. A., Eds. Prediction of Percutaneous Penetration; STS Publishing: Cardiff, 1996; 4b.

Brain, K. R., James, V. J., Walters, K. A., Eds. Perspectives in Percutaneous Penetration; STS Publishing: Cardiff, 1998; 5b.

Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds. Vitro Percutaneous Absorption: Principles, Fundamentals, and Applications; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991.

Bronaugh, R. L., Maibach, H. I., Eds. Percutaneous Absorption, 3rd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.

Chien, Y. W., Ed. Transdermal Controlled Systemic Medications; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987.

de Boer, A. G., Ed. Drug Absorption Enhancement; Harwood Academic Publishers: Switzerland, 1994.

Ghosh, T. K., Pfister, W. R., Yum, S. I., Eds. Transdermal and Topical Drug Delivery Systems; Interpharm Press: Buffalo Grove, 1997.

Hadgraft, J., Guy, R. H., Eds. Transdermal Drug Delivery Developmental Issues and Research Initiatives; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989.

Hsieh, D. S., Ed. Drug Permeation Enhancement—Theory and Applications; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994.

Kemppainen, B. W., Reifenrath, W. G., Eds. Methods for Skin Absorption; CRC Press: Boca Raton, FL, 1990.

Kydonieus, A. F., Wille, J. J., Eds. Biochemical Modulation of Skin Reactions, Transdermals, Topicals, Cosmetics; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000.

Lieberman, H. A., Rieger, M. M., Banker, G. S., Eds. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 1—3.

Loden, M., Maibach, H. I., Eds. Dry Skin and Moisturizers, Chemistry and Function; CRC Press: Boca Raton, FL, 2000.

Marzulli, F. N., Maibach, H. I., Eds. Dermatotoxicology, 5th Ed.; Taylor & Francis: Washington, DC, 1996.

Osborne, D. W., Amann, A. H., Eds. Topical Drug Delivery Formulations; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990.

Potts, R. O., Guy, R. H., Eds. Mechanisms of Transdermal Drug Delivery; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997.

Roberts, M. S., Walters, K. A., Eds. Dermal Absorption and Toxicity Assessment; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998.

Schaefer, H.; Redelmeier, T. E. Skin Barrier—Principles of Percutaneous Absorption; Karger: Basel, 1996.

Scott, R. C., Guy, R. H., Hadgraft, J., Eds. Prediction of Percutaneous Penetration; IBC Technical Services: London, 1990; 1.

Scott, R. C., Guy, R. H., Hadgraft, J., Bodde, H. E., Eds. Prediction of Percutaneous Penetration; IBC Technical Services: London, 1991; 2.

Shah, V. P., Maibach, H. I., Eds. Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration; Plenum Press: New York, 1993.

Shroot, B., Schaefer, H., Eds. Skin Pharmacokinetics; Karger Publishing: Basle, 1987.

Sjöblom, J., Ed. Emulsions and Emulsion Stability; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996.

Smith, E. W., Maibach, H. I., Eds. Percutaneous Penetration Enhancers; CRC Press: Boca Raton, FL, 1995.

Tyle, P., Ed. Drug Delivery Devices—Fundamentals and Applications; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988.

Walters, K. A., Hadgraft, J., Eds. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993.

Zatz, J. L., Ed. Skin Permeation, Fundamentals and Application; Allured Publishing Corp. Wheaton, MD, 1993.

（羊 臻 译）

Y

药物输送：控制释放

Yie W. Chien
Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan
Senshang Lin
St. John's University, Jamaica, New York, U. S. A.

引言

在过去的几十年里，人们通过各种给药剂型，如片剂给药，用于疾病的治疗。这些传统的药品我们仍能经常在处方中和非处方药店中见到。为了将体内药物浓度维持在治疗范围内，必须每日多次服药。这样容易产生我们不期望的血药浓度的波动（图 1）。

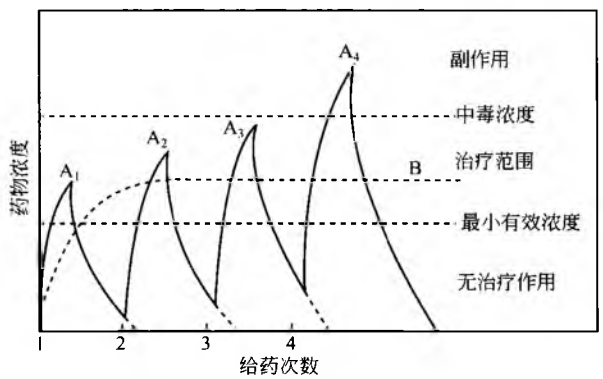


图 1　多剂量给予常规制剂后体内药物浓度曲线。
A_1，A_2，A_3、A_4 与理想药物浓度曲线（B）的比较[6]

在给药系统的新技术研究中最近已经取得不少进展。这些技术不仅能调节给药速率，延长药物治疗的作用时间，而且还能将药物输送到特定的靶组织[1~6]。运用这些先进的技术已经研制了一些新的给药系统，它们兼有以下一个或多个的优点：

（1）控制治疗剂量以预期的速率释放；

（2）维持药物浓度在理想的治疗范围内，以延长治疗的持续时间；

（3）量效关系的最大化；

（4）减少副作用；

（5）减少用药次数；

（6）提高患者的依从性。

鉴于已经上市和正在开发的控制释放给药系统（CrDDS）的复杂性，我们将其分类如下（如图 2 所示）：

（1）速率预设定给药系统；

（2）激活调节给药系统；

（3）反馈调节给药系统；

（4）靶向给药系统。

本章将对新一代开发的给药系统的科学概念和技术原理进行概述和讨论。

程序化调节速率给药系统

在这种 CrDDS 中，药物分子是以程序化设定的速率释放。系统的设计是通过控制药物分子从系统内或周围障碍介质的扩散完成的。其释放速度符合 Fick's 扩散定律。此类系统可进一步分类如下：

（1）聚合物膜控型给药系统；

（2）聚合物骨架型扩散控释给药系统；

（3）聚合膜、骨架联用型给药系统；

（4）微储库型分配控释给药系统。

1. 聚合物膜控型给药系统

在这种 CrDDS 中，药物分子完全或部分包裹在药物储库室内，其释放表面覆盖着一层控释聚合膜。其储库可以是固体药物微粒、固体药物微粒的分散体或是液体或固体分散介质中的药物浓缩液。聚合膜可用均匀或不均匀的无孔聚合材料制备，或微孔性或半透性的膜。储库中的药物处方可以通过压模、装胶囊、微囊化等技术进行封装。已研制出不同形状和大小的给药系统（图 3）。

药物以恒定的速率（Q/t）从这种控释制剂中释放，其释放过程可表述为

$$\frac{Q}{t}=\frac{K_{m/r}K_{a/m}D_dD_m}{K_{m/r}D_mh_d+K_{a/m}D_dh_m}c_R \qquad (1)$$

式中：$K_{m/r}$和 $K_{a/m}$分别为药物分子由储库到膜和从膜到水分散层的界面分配系数；D_m 和 D_d 分别为从厚度为 h_m 的限速膜和厚度为 h_d 的分散层的界面扩散系数，对于微孔膜，在计算 D_m 和 h_m 时应将膜上微孔的孔积率和曲率计算在内；c_R 为储库中的药物浓度。

通过对药物分子的分配系数、扩散系数和限速膜的调节以及膜厚度的控制使药物能以设定好的速率从这种释药系统中释放。该系统中的很多产品现已成功作为治疗药物上市。接下来我们简要地介绍其中一些具有代表性的产品。

1.1　孕酮宫内节育器（Progestasert® IUD）

宫内节育控释给药装置，其药物储库是将孕酮混悬于医用硅油中，装入管壁用乙烯-乙酸乙烯（EVA）共聚物制成的无孔的 T 形装置的垂直管中（图 4）。它在子宫内能以

Y

65μg/d 的释放速率持续释放孕酮，可有效避孕 1 年[6]。Mirena® 也采用了类似技术，将 52mg 的左炔诺孕酮装入 T 形塑料支架的类固醇储库中，并以 20μg/d 的剂量释药，能有效避孕 5 年[7-9]。

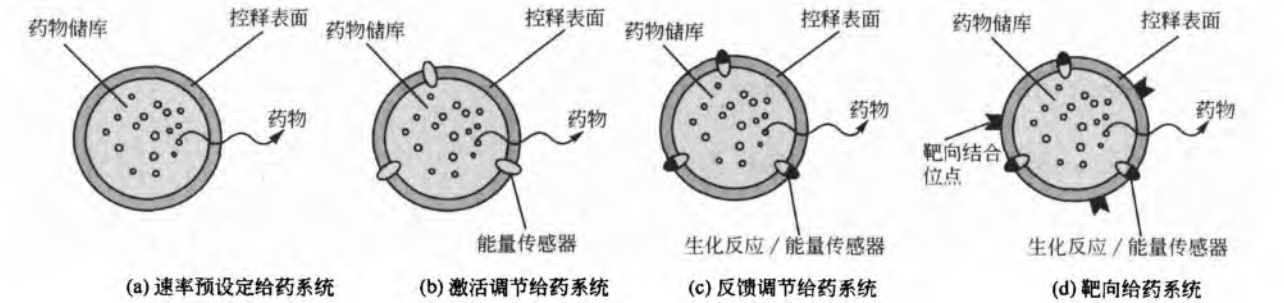


图 2 四种主要控释给药系统

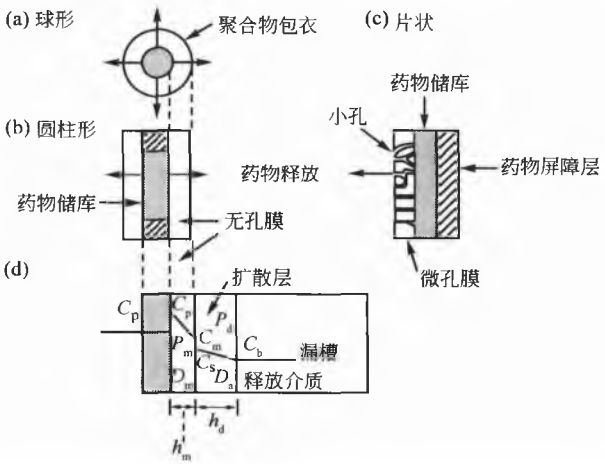


图 3 药物从各种形状的聚合物膜控释给药系统中的释放。(a) 球形；(b) 圆柱形；(c) 片状；图 (d) 中，药物通过控释聚合物膜和水扩散层的浓度梯度，有孔或无孔的聚合物膜及扩散层均有限速的厚度（分别为 h_m 和 h_d）

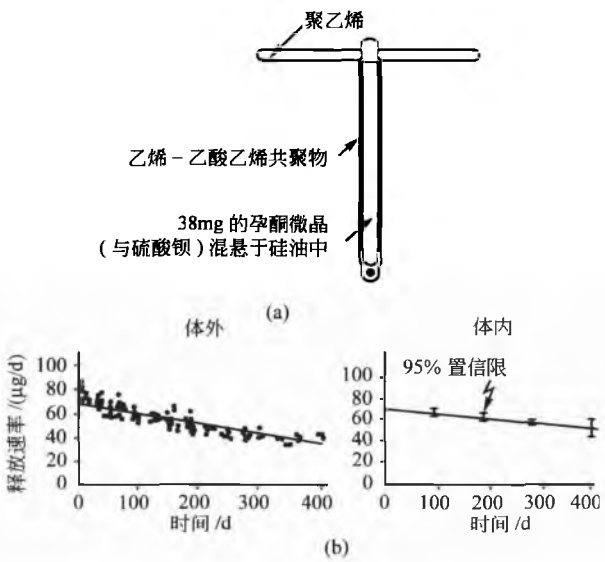


图 4 (a) 孕酮宫内节育器的结构及 (b) 400 天内孕酮体内、外释放速率曲线

1.2 毛果芸香碱眼用植入剂（Ocusert® 系统）

眼用控释植入剂，其药物储库是将含有毛果芸香碱海藻酸盐复合物的薄片夹含在由乙烯 - 乙酸乙烯共聚物（EVA）制得的两层微孔膜中（图 5）。泪液可以通过微孔膜渗透进此药物储库室中，从复合物中溶解毛果芸香碱。接着，毛果芸香碱分子可以以 20μg /h 或 40μg /h 恒定的速率释放 4 ~ 7 天，用以调节青光眼[1, 6, 10, 11]。

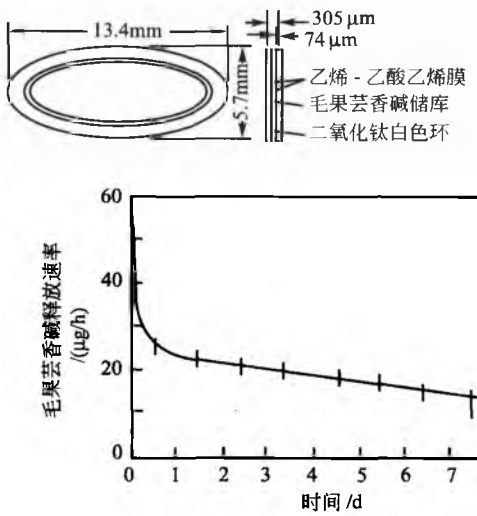


图 5 Ocusert® 系统的结构及 Ocusert® pilo20 在眼部的释放速率[11]

1.3 硝酸甘油透皮贴剂（Transderm-Nitro® 系统）

经皮控释治疗系统，其药物储库是将硝酸甘油和乳糖分散于医用硅油中，再将其包封成椭圆形的薄片。药物储库包夹在两层膜中，其中一层为药物不可通透的金属塑料薄片，作为背衬层；另一层是由药物可透过且可控速的乙烯-乙酸乙烯共聚物膜组成（图 6）。此装置采用了注射、压模的工艺。硅胶黏附薄层紧密地包在透药膜外，以保证释药面与皮肤能长时间地紧密接触。它能以 0.5mg/(cm² · d) 的速率透皮释放硝酸甘油，用以缓解心绞痛[2,3]。

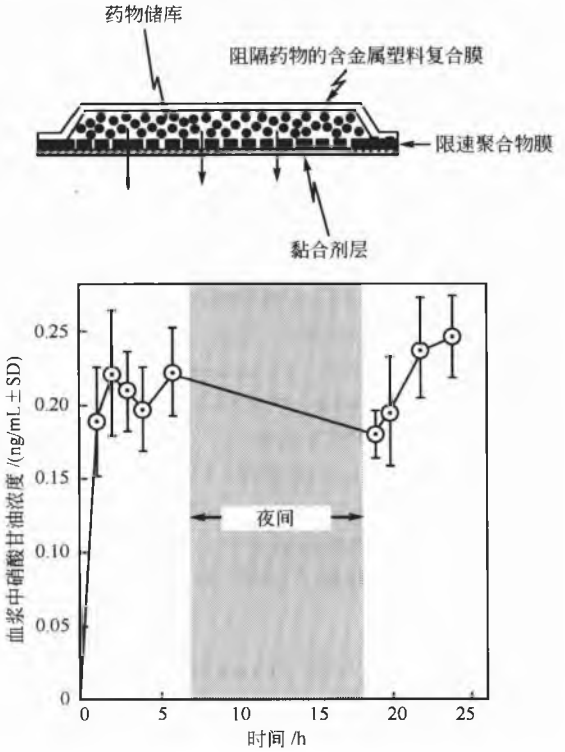


图 6 Transderm-Nitro® 系统的切面图，图示各部位的结构及 14 名志愿者使用 1 片 Transderm-Nitro® 系统（20cm²，给药速率 10mg/d）24h 后血浆中硝酸甘油曲线[11,55]

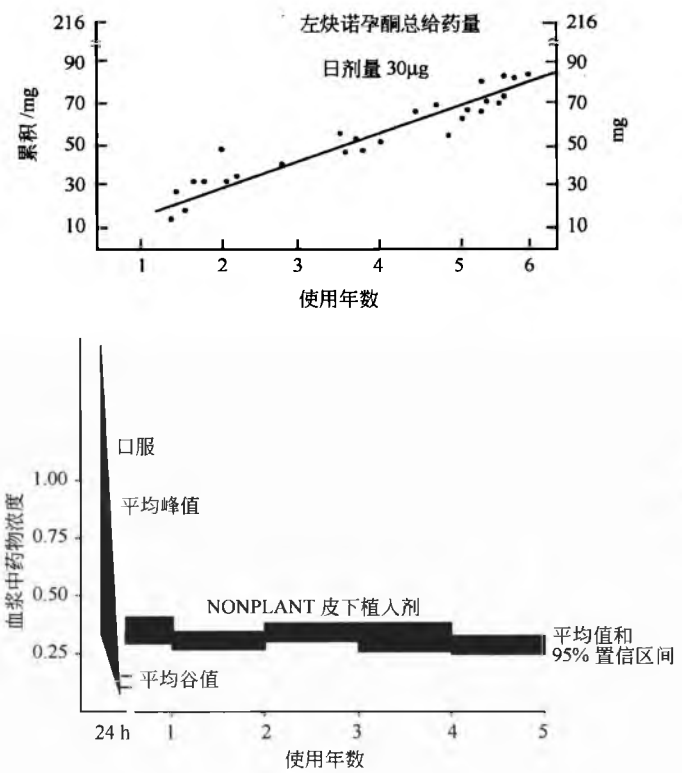
同类技术也用于开发以下的系统：① Estraderm® 系统，透皮控释给药雌二醇 3～4 天，用于减轻绝经后的综合征和骨质疏松症[12~14]；② Duragesic® 系统，72h 透皮控制释放强效麻醉止痛剂芬太尼，用以减轻慢性疼痛[14]；③ Androderm® 系统，通过非阴囊皮肤 24h 透皮控释给予睾酮，用以替代治疗睾酮不足的患者[14]。

1.4 左炔诺孕酮皮下植入剂（Norplant®）

控释皮下植入剂，由无孔医用硅胶管制得，硅胶管两端用医用硅胶黏合剂封固，内装入左炔诺孕酮微晶（一代）或左炔诺孕酮与硅橡胶骨架均匀混合物（二代）。每天以30μg的剂量持续释放左炔诺孕酮，皮下埋植一组 Norplant® 一代六根或二代两根（图 7），释药可长达 7 年[15~18]。

2. 聚合物骨架型扩散控释给药系统

在这种 CrDDS 中，药物微粒均匀地分散在疏水或亲水的聚合物骨架中，聚合物骨架起储库作用。药物通过以下两种方式分散在聚合物骨架中：①将磨细的药物颗粒与聚合物的黏稠液或半固体混合，再进行聚合物链的交联；②在较高温度下将熔融的聚合物骨架与药物固体混合，得到的药物与聚合物骨架分散体可被压制或挤出成各种形状和大小的给药装置，以适合各种用途（图 8）。也可将药物和聚合物骨架溶解在常用的溶剂中，通过提高温度和（或）在密闭的真空容器中将溶剂蒸发而得到。



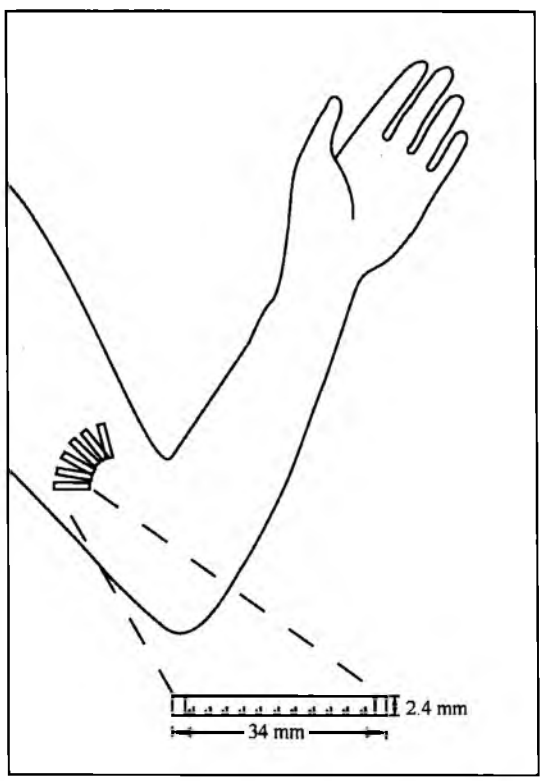


图 7 皮下埋植 Norplant® 植入剂，在女性志愿者皮下埋植左炔诺孕酮 6 年的释药曲线及其血浆浓度曲线与口服给药的比较[15~18]

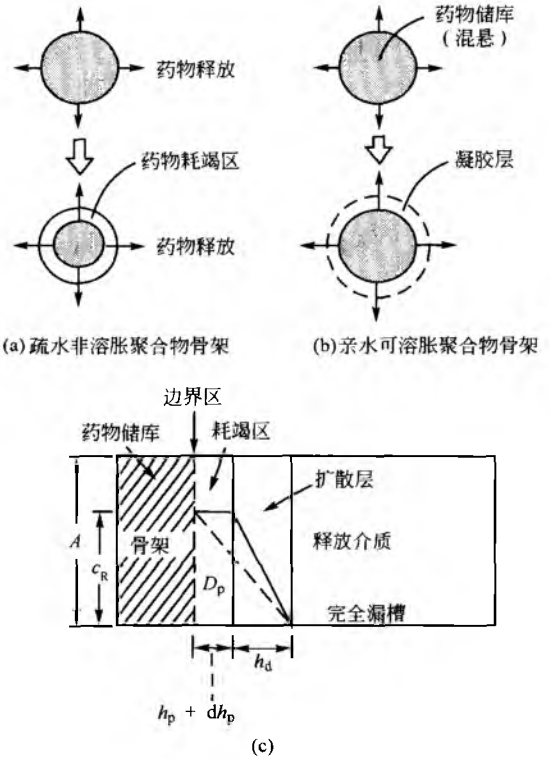


图 8 聚合物骨架扩散控制给药系统的药物储库均匀地分散在（a）疏水非溶胀聚合物骨架，其药物耗竭区的厚度不断增加；（b）亲水可溶胀聚合物骨架，其药物耗竭的凝胶层厚度不断增加；（c）药物通过厚度（h_p + dh_p）不断增加的与时间相关的药物耗竭区和控制厚度为 h_d 的亲水扩散层的浓度梯度

药物从骨架控制扩散给药系统中的释放不是以恒定速率释放，因其释放速度是时间依赖型的，可用式（2）描述：

$$Q = (2Ac_R D_P)^{1/2} t^{1/2} \quad (2)$$

式中：A 为聚合物骨架中药物的初始剂量；c_R 表示药物在聚合物骨架中的浓度，也是骨架中储库内的药物浓度；D_P 表示药物分子在聚合物骨架中的扩散系数。

通过控制药物的载药量和药物在聚合物中的溶解度以及在其骨架中的扩散系数，使药物分子能以预置好的速率从此类释药系统中释放。该系统中的很多产品现已成功作为治疗药物上市。其代表性产品概述如下。

2.1 Nitro-Dur® 系统

此控释经皮治疗系统的制备是先将水溶性的聚合物、甘油和聚乙烯醇的水溶液加热，然后降温形成聚合凝胶。再将硝酸甘油和研磨好的乳糖分散于此凝胶中，混合物通过室温冷却固化，利用压膜和切割技术将其制成含药聚合圆片。再将药物包封于药物不能透过的金属塑料薄片中，在含药薄片周围涂上胶黏剂，便形成了经皮治疗系统贴剂（图 9）。完整的皮肤每日经皮吸收 0.5mg/cm² 硝酸甘油，用以预防心绞痛[2,19]。

药物储库也可直接分散在胶黏的聚合物里，如聚异丁烯类、聚丙烯酸酯类胶黏剂，再通过溶剂涂布或热熔将含药胶平铺在药物不可通透的背衬层上，以形成单层或多层的药物储库。这种经皮 CrDDS 已开发并投放市场的最好例子，如日本 Toaeiyo 和 Yamanouchi 公司的硝酸异山梨酯经皮给药系统，商品名为 Frandol® 贴剂；美国 Key 公司的硝酸甘油经皮给药系统，商品名为 Nitro-Dur® II，用于一天给药一次的心绞痛的治疗。第二代经皮给药系统 Nitro-Dur® II 也同样获得美国 FDA 批准并投放市场。Nitro-Dur® II 与 Nitro-Dur® 的比较如图 10 所示，同时 Nitro-Dur® II 在市场上也逐渐地取代了第一代 Nitro-Dur®。同类技术也用于开发以下产品：①Habitrol® 和 Nicotrol® 系统，它们能经皮 24h 控制释放尼古丁用于戒烟[14]；②Minitran® 系统，它能经皮 24h 控制释放硝酸甘油，用于缓解心绞痛[14]；③Testoderm® 系统，它能经阴囊的皮肤 24h 控制释放睾酮，用于替代治疗睾酮缺乏症的患者[14]；④Climara® 系统，它能每周一次经皮控制释放 17β-雌二醇，用于绝经引起的血管收缩[14]。

2.2 雌二醇植入剂（Compudose®）

雌二醇皮下植入剂的制备是先将微粉化的雌二醇分散于黏稠的硅橡胶和催化剂的混合物中，再将雌二醇聚合物分散体包裹于不含药的硬硅胶柱中，利用挤出技术制成柱状植入剂（图 11）。将该植入剂置入牛耳垂内，在 200 天或 400 天可持续控制每日的雌二醇的释放量用以促生长[20]。

为了改善 Q 与 $t^{1/2}$ 的药物释放模式［式（2）中］，聚合物骨架型扩散控释给药系统可进行改进：在聚合物骨架内逆着扩散路径，药物储库浓度呈梯度增加。这样药物便可以实现恒速释放，其从梯度控释储库中的释放速率可用以下公式描述：

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{K_{s/r} D_s}{h_s(t)} C_p(h_s) \quad (3)$$

式中：h_s 为药物分子的扩散路径厚度，其随时间不断增加；药物载药量 $C_p(h_s)$ 随厚度的变化也同比例增加，因此药物便可恒速释放。Deponit® 硝酸甘油释放系统很好地采用了此类系统（图 12）。欧洲 Pharma-Schwartz 和 Lohmann in Europe 公司首先将其投放市场[21]。美国的 Wyeth-Ayerst 公司也同样获得美国 FDA 批准在美国上市该品种。

最近的研究表明，药物的释放，如普萘洛尔多层黏附片的 TDD 系统，可通过控制微晶在不同的黏附骨架涂层中的粒径分布维持零级释放[22]。

3. 聚合膜、骨架联用型给药系统

此 CrDDS 是将恒速释放的聚合物膜控型给药系统与机械性能好的聚合物骨架型扩散控释给药系统联用。药物恒速从这种夹层型给药系统中释放（图 13），其药物瞬时释放速率可描述为

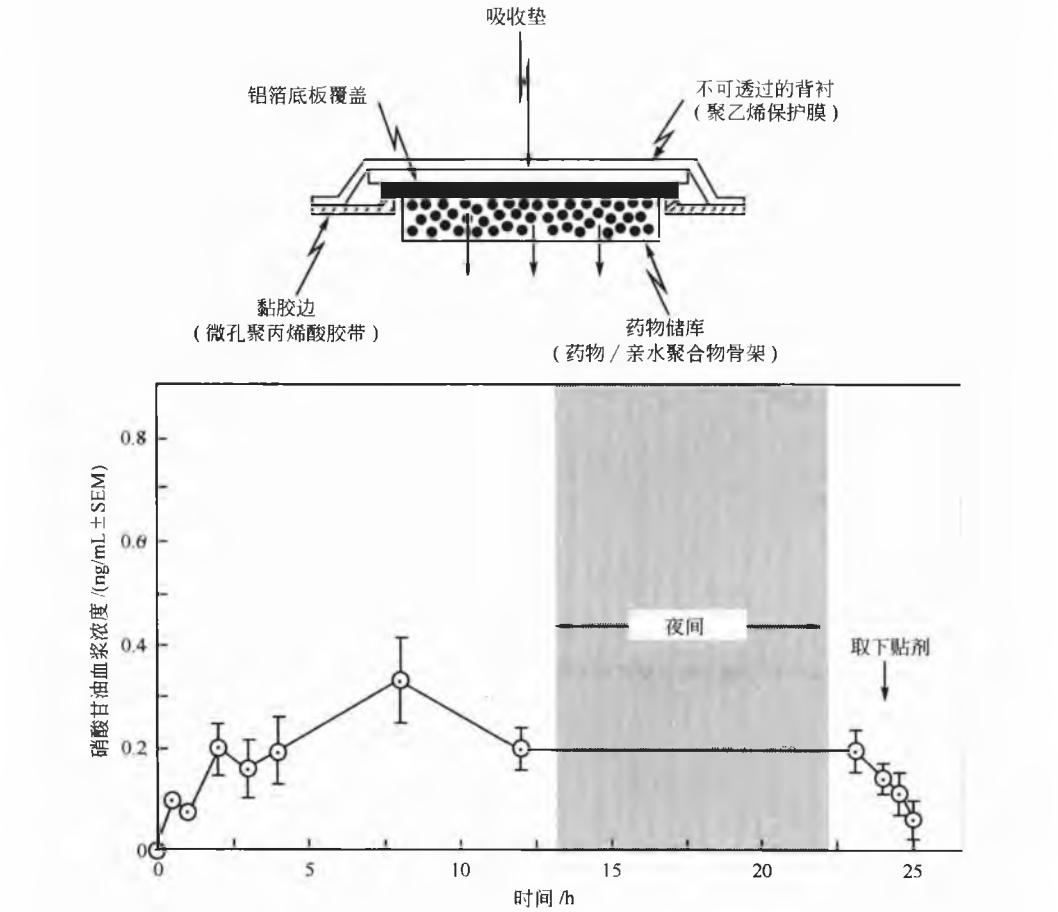


图 9　Nitro-Dur® 系统切面图，显示其结构中各部分，以及 6 名志愿者给予 20cm²、日释放量为 10mg 的 Nitro-Dur® 系统 24h 内的硝酸甘油的血药浓度变化曲线[55, 56]

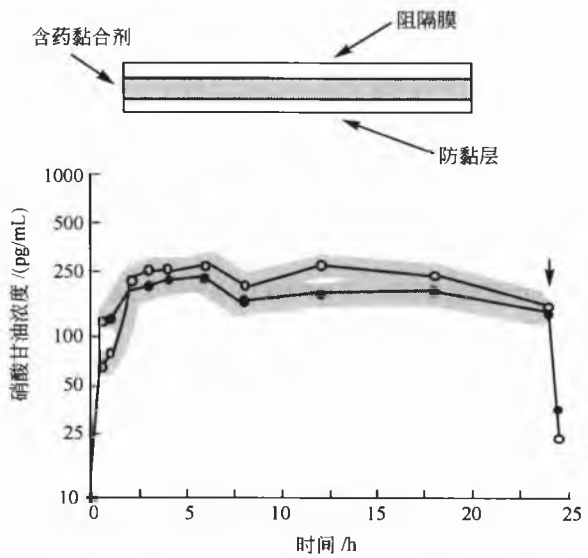


图 10　Nitro-Dur® II 系统切面图，图示其结构中各部分，以及 24 名男性志愿者给予 20cm²、日释放量为 10mg 的 Nitro-Dur® II 系统（○）和 Nitro-Dur® 系统（•）24h 内的硝酸甘油的血药浓度变化曲线（箭头处表示给药系统已移除）[56]

Y

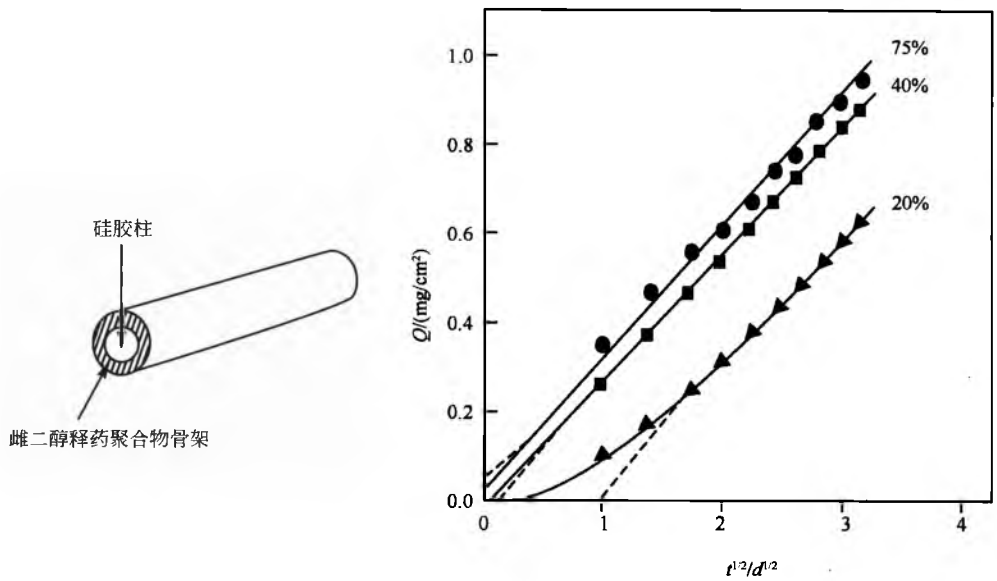


图 11 Compudose® 皮下植入剂以及其在不同比例的聚乙二醇 400 溶液中雌二醇的体外释放曲线

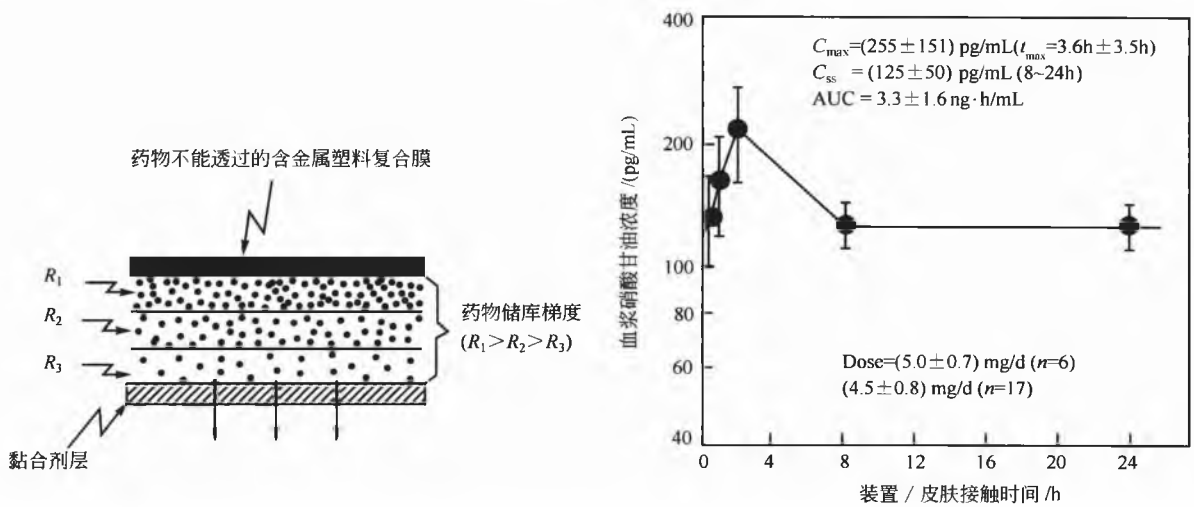


图 12 Deponit® 系统的切面图，图示其结构中各部分及 6 名志愿者给予 16cm²、日释放量为 5mg 硝酸甘油的 Deponit 系统 24h 内的血药浓度变化曲线[21]

$$\frac{dQ}{dt}=\frac{Ac_pD_p}{[D_pK_m\ (1/P_m+1/P_d)]^2+4Ac_pD_pt^{1/2}} \quad (4)$$

式中：A 为一个单位体积的聚合物骨架中药物的初始剂量；c_p 和 D_p 分别为药物在聚合物骨架中的溶解度和扩散度；K_m 为药物分子在聚合物骨架与聚合物包衣膜的界面分配系数；P_m 为厚度为 h_m 的聚合物包衣膜的渗透系数；P_d 为厚度为 h_d 的亲水扩散层的渗透系数。

此混合系统的例子有可乐定和东莨菪碱透皮治疗系统（Catapres-TTS® 和 Transderm-Scop®）（图 14）。此系统是将不含药的限速膜包在分散有药物的聚合物骨架表面，药物分子的释放由膜渗透控制取代骨架扩散控制。左炔诺孕酮皮下植入剂（Norplant® II）就采用了此技术。

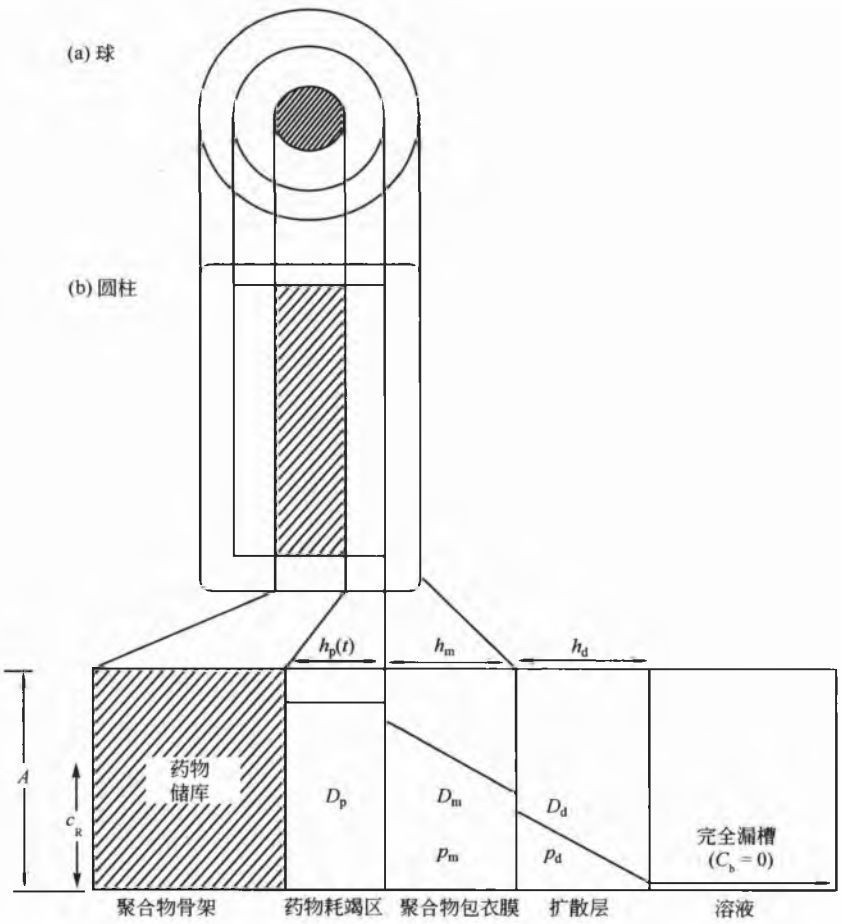


图 13　膜控与骨架控制联用的给药系统中药物的释放，该系统中固体药物分子均匀地分散在聚合物骨架内，其外层包有聚合膜，D、P 和 h 分别代表扩散度、渗透度和厚度，下标 p、m 和 d 分别表示聚合物骨架耗竭区、聚合物包衣膜和扩散层

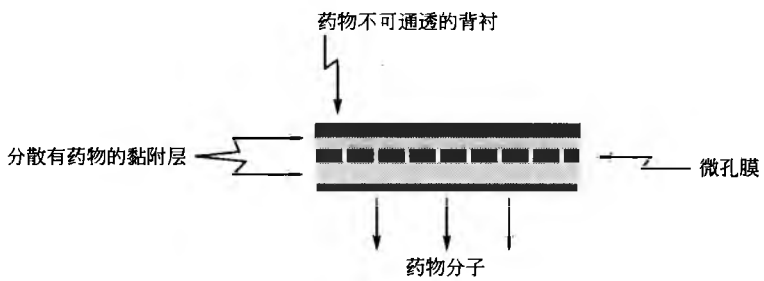


图 14　Catapres-TTS® 和 Transderm-Scop® 系统的横切面直观图和其结构中各成分

4. 微储库分配控释给药系统

这种 CrDDS 中的药物储库是将固体药物粒子混悬于水溶性聚合物溶液，如聚乙二醇中。这样便形成了各自独立且不易渗漏的药物微储库，均匀地分散于生物相容的聚合物，如硅橡胶中（图 15）。利用高能分散技术可以得到微分散体[13, 23]。采用压膜和挤出技术可以得到不同形状和大小的此类微储库 CrDDS 的给药装置。根据药物的理化性质和预期的释放速率，此装置可以进一步用生物相容的聚合物包衣，借以改善药物的释放机制和释放速率。此类 CrDDS 中药物的释放速率（dQ/dt）可以表述为

$$\frac{dQ}{dt}=\frac{D_p D_d m K_p}{D_p h_d + D_d h_p m K_p}\left[nS_p - \frac{D_1 S_1 (1-n)}{h_t}\left(\frac{1}{K_1}+\frac{1}{K_m}\right)\right] \tag{5}$$

Y

式中：$m=a/b$，n 为界面屏障的内侧边缘的药物浓度与聚合物骨架内药物溶解度的比值[1,6]，a 为溶出介质中药物浓度与溶解度的比值，b 为聚合膜外包衣侧边缘的药物浓度与聚合膜中药物溶解度的比值；K_1、K_m 和 K_p 分别为药物从药液室至聚合物骨架，从聚合物骨架至聚合物包衣膜，从聚合物包衣膜至溶出介质各层界面之间的分配系数；D_l 为药物在其颗粒周围厚度为 h_l 的溶液层中的扩散度；D_p 为药物在聚合物骨架外厚度为 h_p 的包衣膜中的扩散度；D_d 为药物在聚合物包衣膜周围厚度为 h_d 的亲水扩散层中的扩散度（图 15）；S_l 和 S_p 分别为药液室和聚合物骨架中药物的溶解度。

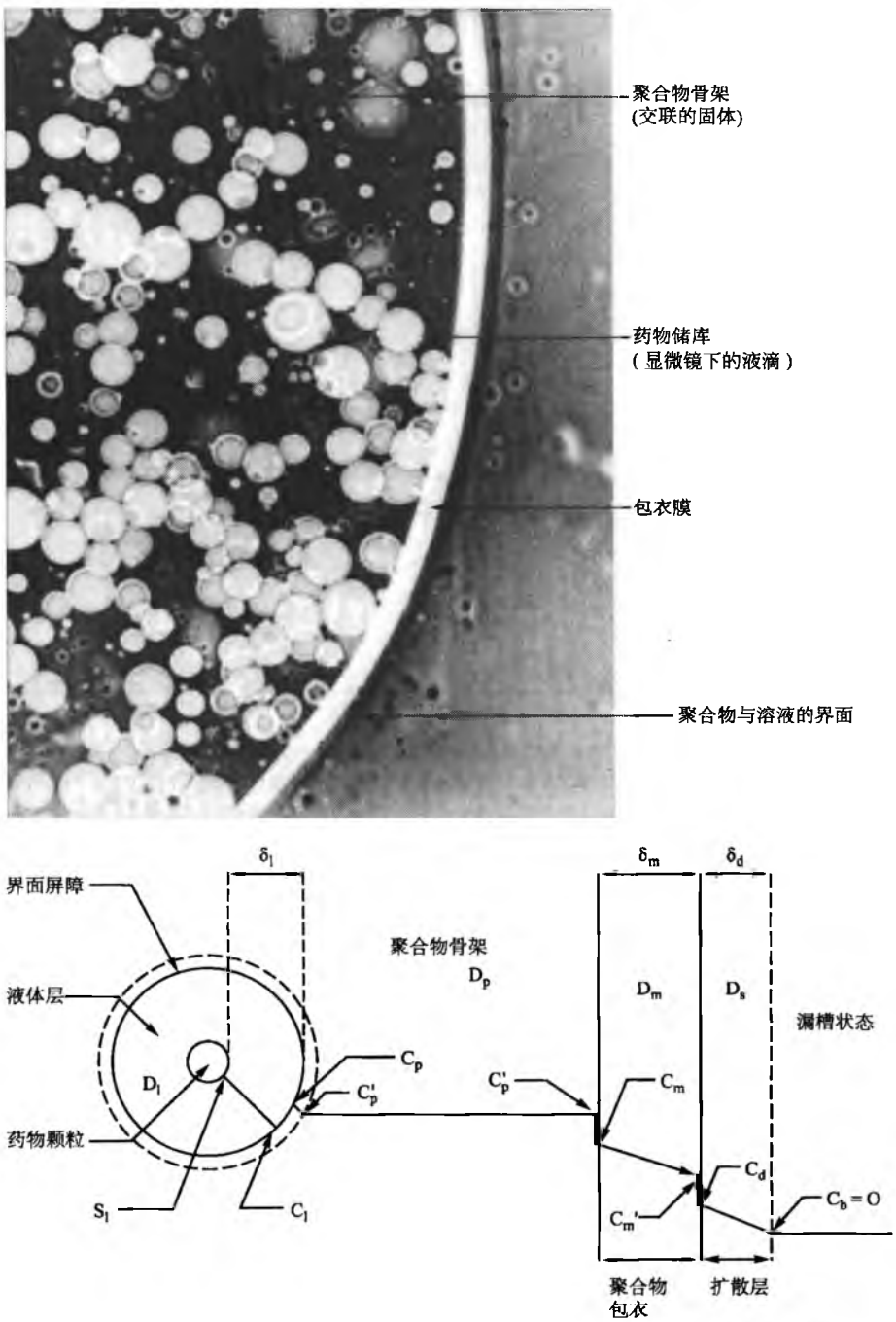


图 15 微储库型给药系统及其各部分的结构示意图以及控制释放机制的物理模型[1,57]

根据 S_1 和 S_p 的溶解大小，药物从此微储库型 CrDDS 中的释放包含了溶解和骨架溶蚀控制两种过程。简要介绍其中一些具有代表性的产品。

4.1 Nitrodisc® 系统

这种经皮 CrDDS 的药物储库（图 16）是将硝酸甘油与粉碎好的乳糖混悬于聚乙二醇 400 的 40%水溶液中，通过高能的搅拌技术可以将药物储库和皮肤促渗剂，如肉豆蔻酸异丙酯均匀地分散于黏稠的硅橡胶和催化剂混合体系中[25]。将此药物—聚合物分散体制成含药的固体圆盘，利用注射压膜及瞬时加热技术封装于药物不可通透的金属塑料夹层中，周边涂上黏合剂。每日可经皮提供 0.5mg/cm² 的硝酸甘油，用于心绞痛的治疗[2,26]。此系统为释放速率随 $t^{1/2}$ 变化的骨架扩散控制释放模式。

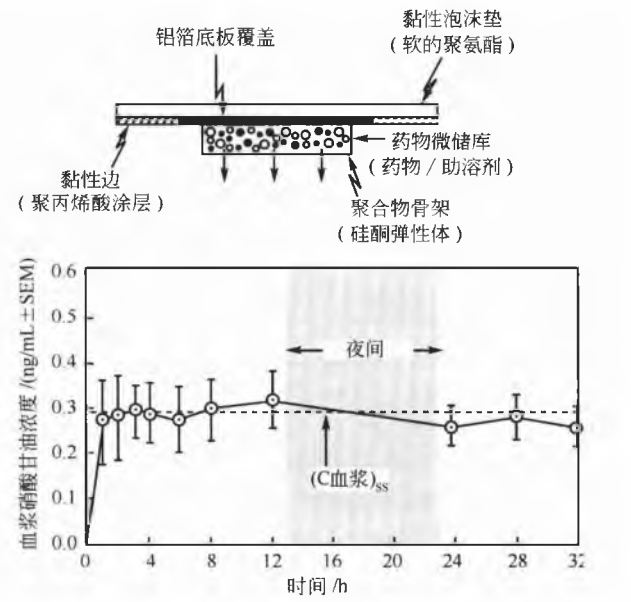


图 16 Nitrodisc® 系统的切面图，显示其结构中各部分及 12 名志愿者给予 16cm²、日释放量为 10mg 的硝酸甘油 Nitrodisk 系统 32h 内的血药浓度变化曲线[23]

4.2 诺孕美特皮下植入剂（Syncro-Mate-C 植入剂）

这种皮下控释植入剂的制备是利用高能分散技术将混悬于 PEG400 水溶液中的诺孕美特储库分散于硅橡胶黏稠混合物中[24]。加入催化剂后，将此混悬液注入医用级的硅胶管，硅胶管既是膜具又是包衣膜层，现场聚合而成。再将此聚合的药物聚合物切割成柱状植入剂，其两端保持开口（图 17）。将此微柱状植入剂植入家畜的耳垂内，可在组织内 20 天持续释放诺孕美特，便可控制家畜的同期发情及排卵达 160 天，用以促进家畜的生长。在溶解控制释放过程中，Q 随 t 的变化值是恒定的，而 Nitrodisc® 系统的骨架扩散控制释放过程中 Q 随 $t^{1/2}$ 的变化在上面已经讨论过了。

4.3 经皮避孕装置

这种经皮避孕装置来源于专利保护的微型药物储库技术[26]，可双重控制左炔诺孕酮（强效的人工合成黄体酮）和雌二醇（一种天然的雌激素）以恒定的速率连续 7 天释药[5]。在月经周期的第 5 天开始，每周给予一个单位剂量（10cm² 或 20cm²）的经皮避孕装置，连续 3 周，可以维持恒定的左炔诺孕酮的血药水平，用以有效地抑制促性腺激素类和黄体酮的分泌（图 18）。

激活调控型给药系统

这种 CrDDS 的药物释放的激活是靠一些物理、化学或生化的过程或靠外部施加能量（图 2）。因此，通过调节各种激活过程和施加能量可以控制药物的释放速率。基于激活过程的不同和外加能量的类型的不同，激活调控 CrDDS 可以分为以下几类：

（1）物理方法
- 渗透压激活型给药系统；
- 流体动力学压力激活型给药系统；
- 蒸气压激活型给药系统；
- 机械力激活型给药系统；
- 磁激活型给药系统；
- 超声激活型给药系统；
- 离子导入激活型给药系统；
- 水化激活型给药系统。

（2）化学方法
- pH 激活型给药系统；
- 离子激活型给药系统；
- 水解激活型给药系统。

（3）生物化学方法
- 酶激活型给药系统；
- 生物化学激活型给药系统。

这类 CrDDS 的几个产品已成功应用于临床，用于化学药物和生物药物的控释给药。现详细叙述如下。

1. 渗透压激活型给药系统

这种 CrDDS 的药物的储库是将药物溶液或固体装入可控制水分渗透的半渗室内。在受控制的渗透压梯度下，药物溶液恒速从用特殊的激光致孔的渗透室内释放出来。

对于溶液型渗透压激活的 CrDDS，其初始的药物释放速率（Q/t）可以定义如下：

$$\frac{Q}{t}=\frac{P_w A_m}{h_m}(\pi_s-\pi_e) \qquad (6)$$

对于固体型渗透压激活的 CrDDS，其初始的药物释放速率（Q/t）为恒量，可以定义如下：

Y

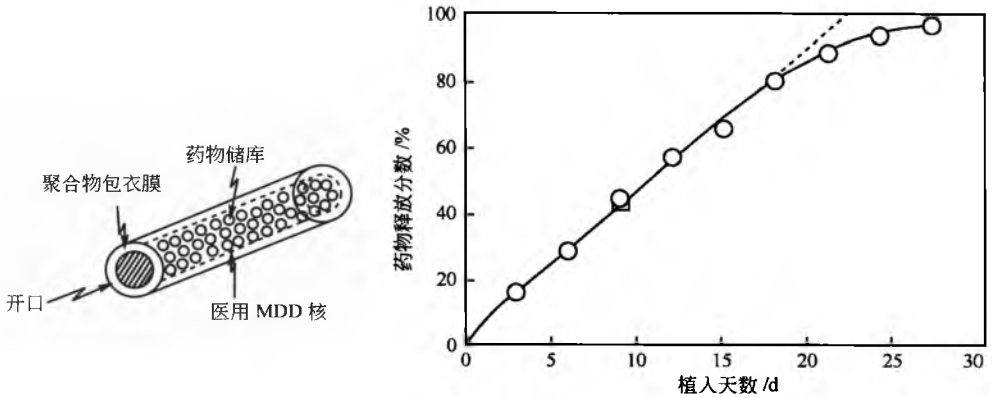


图 17 微储库扩散控制给药系统的皮下植入剂 Syncro-Mate-C，在 20 天内可以以恒速控制释放诺孕美特（强效的人工合成黄体酮）。其开口端并不影响药物在体内的零级释放[57]

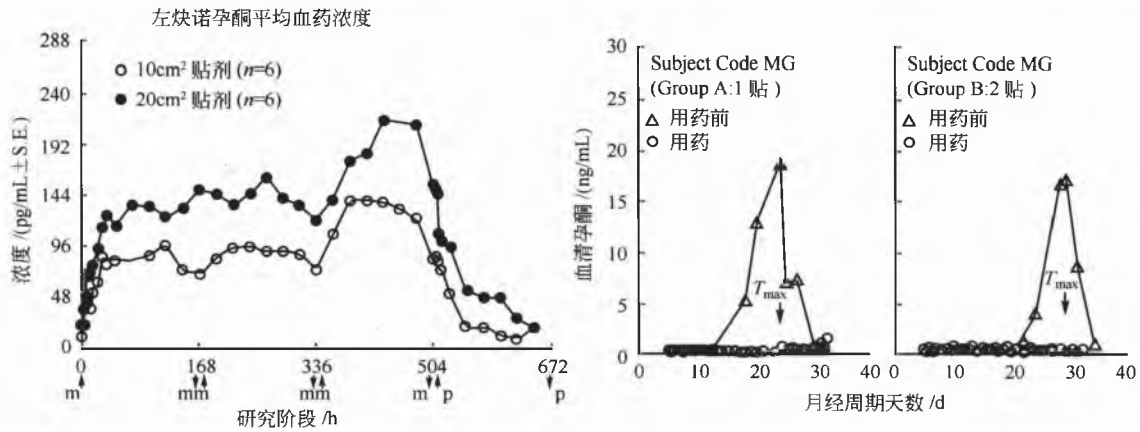


图 18 （左图）12 名志愿者连续 3 周给予 1 个或 2 个单位相同剂量（10cm²，日释放量为 28.3mg）的左炔诺孕酮经皮避孕系统和安慰剂，以及他们在第 4 周的血药浓度变化曲线。↓表示取下旧的；↑表示用上新的。（右图）两组受试者，A 组用贴剂为 10cm²，而 B 组为 20cm²，在治疗前和治疗期给予黄体酮后各组的血药浓度变化曲线。治疗期内抑制黄体酮的高峰的出现表明生育得到有效的控制

$$\frac{Q}{t}=\frac{P_w A_m}{h_m}(\pi_s-\pi_e)\,S_d \qquad (7)$$

式中：P_w、A_m 和 h_m 分别为半透室的渗水率、有效表面积和厚度；$(\pi_s-\pi_e)$ 为给药系统内渗透压 π_s 与周围渗透压 π_e 之间的压差；S_d 为药物在固体储库室溶液中的溶解度。

这种 CrDDS 药物的释放是通过渗透压来驱动，并由半透室的渗水率、有效表面积及渗透压梯度来控制其释放速率。这种系统中的很多产品现已成功作为治疗药物上市。其中一些具有代表性的产品简要地介绍如下。

1.1 Alzet®渗透泵

植入或插入 CrDDS 的药物的储库是将药液装入可折叠且药物不可通透的聚酯袋内，其外部包有一层渗透压活性盐，如氯化钠。再将此储库室密封于壁上涂有半透膜的硬质外壳内（图 19）。在植入部位，组织液以一定的速率渗透进半透膜并溶解活性盐。这样，在柔软的储库壁与硬质半透膜外壳之间便形成了狭窄的渗透压空间。在渗透压的驱动下［方程（6）］，药物储库室的容积随之减少，药物溶液也以一定速率通过调节口释放[27,28]。通过改变药物的浓度，不同剂量的药物可以在 1～4 周的时间内以恒定的速率释放给药。

此外，此技术除了用于皮下控释给药以供药理学研究外，近来还将其用于直肠给药的零级控释。这样就避免了肝的首过效应[29]。

1.2 Acutrim®片

这种口服 CrDDS 的药物的储库是用三醋酸纤维素渗透膜将溶于水且具有渗透活性的盐酸苯丙醇胺（PPA）包封于膜内的固体片[2,30]。半透膜的表面包有 PPA 的速释层（图 20）。在消化道内，胃肠液先溶解 PPA 的速释层以提供初始剂量，接着渗透入渗透膜释放其缓释部分。在渗透压的驱动下［方程（7）］，PPA 溶液可以持续地以一定的速率从激光孔中释放[2,30,31]。在控制体重

的治疗中，此片剂可控制释放 PPA 达 16h 用于抑制食欲。吲哚美辛也采用了相同的口服给药技术。应用此技术开发出了推挽式渗透压激活的 CrDDS，用于硝苯地平和美托洛尔的口服控释给药系统[27]。进一步开发了延时起效的维拉帕米控释给药系统，在早晨能提供最高的血药浓度[14]。

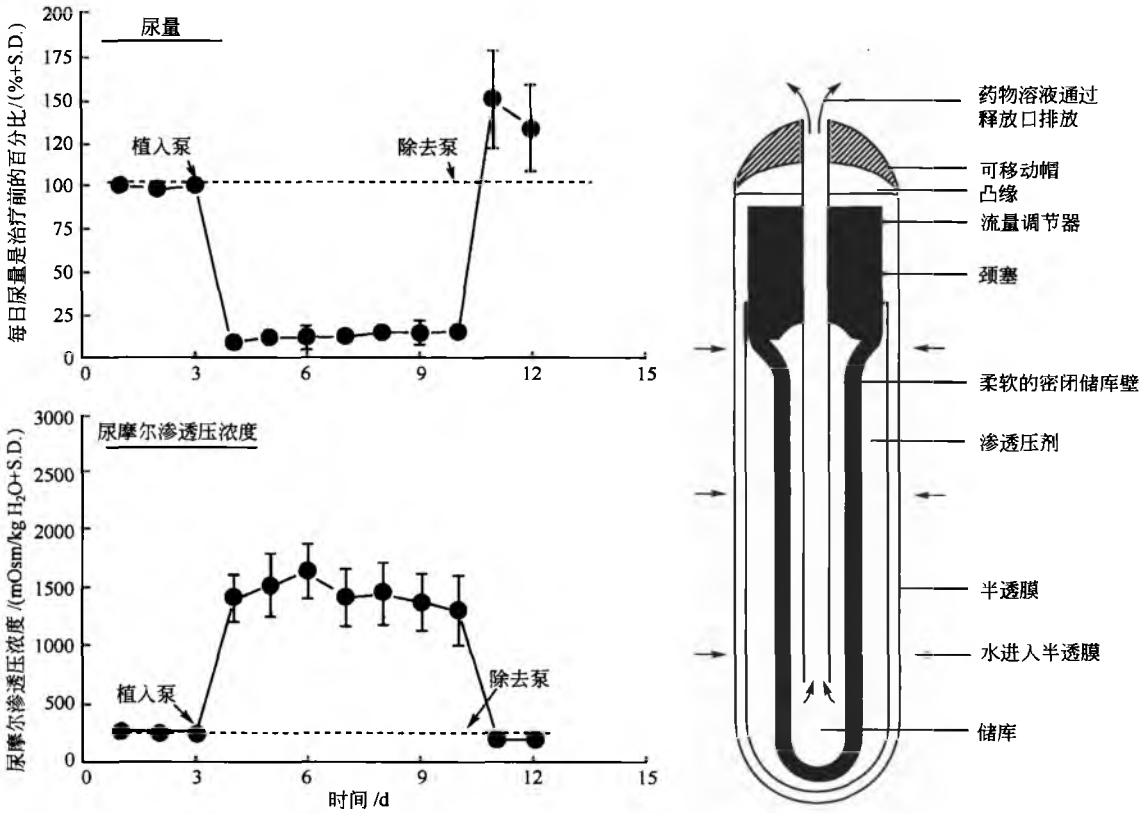


图 19 （右图）Alzet® 渗透压激活型给药系统其渗透泵的切面图；（左图）患有尿崩症的 Brattleboro 大鼠，皮下给予抗利尿激素后（加压素），7 天内的尿液日排放量与尿摩尔渗透压浓度

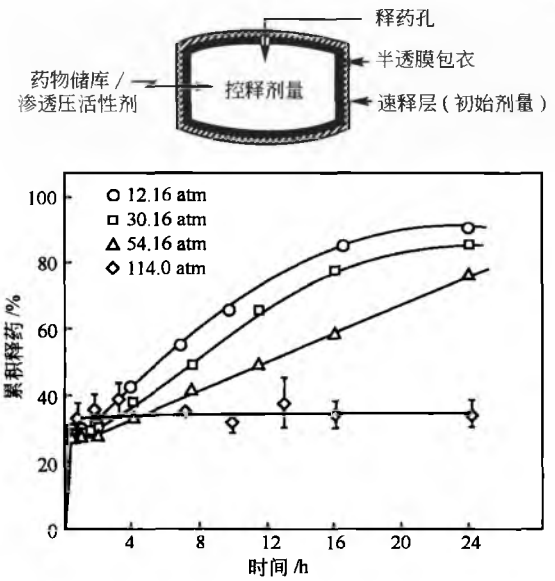


图 20 固体渗透压激活型给药系统 Acutrim® 片的切面图，以及在肠液条件下增加溶解介质中的渗透压对 Acutrim® 片中盐酸苯丙醇胺释放的影响[31,58]

2. 流体动力学压力激活型给药系统

对于上述讨论过的渗透压激活型给药系统的补充，作为潜在的能源的流体动力学压力激活型给药系统也已很好地用于调节治疗药物的输送[2]。

流体动力学压力激活型给药系统的制备是将液体药物装入可折叠且不可通透的容器内形成药物储库室。再将此储库室装入坚硬且不易变形的外壳内。在药物储库室和外壳之间夹有吸收剂层与亲水且易溶胀的聚合物薄片层。在胃肠道内，此薄片层将通过外壳底部环状开口吸入胃肠液并溶胀，系统内便形成了流体动力学压力，在此压力的驱动下，药物储库室的容积随之减小，使药液通过给药孔释放[32]。药物的释放速率可定义如下：

$$\frac{Q}{t}=\frac{P_f A_m}{h_m}(\theta_s-\theta_e) \qquad (8)$$

式中：P_f、A_m 和 h_m 为透水率、环状开口的有效表面积和厚度；$\theta_s-\theta_e$ 为给药系统内流体动力学压力 θ_s 与周围压力 θ_e 之间的压差。这种 CrDDS 中药物的释放是通过流体动力学压力来驱动，并由渗透室的渗水率、环状开口的有效表面积及流体动力学压力梯度来控制其释放速率。

Y

3. 蒸气压激活型给药系统

这种 CrDDS 药物储库是将药物溶液装入输注室，该室由自由移动的隔离物与泵室物理性地分隔开（图 21）。泵室里含有可蒸发的液体，如氟碳化合物，它可在体温下蒸发而产生蒸气压。在蒸气压作用下，隔离物向上移动，使药物溶液从输注室中输出，并通过一系列的流量调节器和给药插管以恒定的速率进入血液循环[1, 6, 33]。其过程可表述为

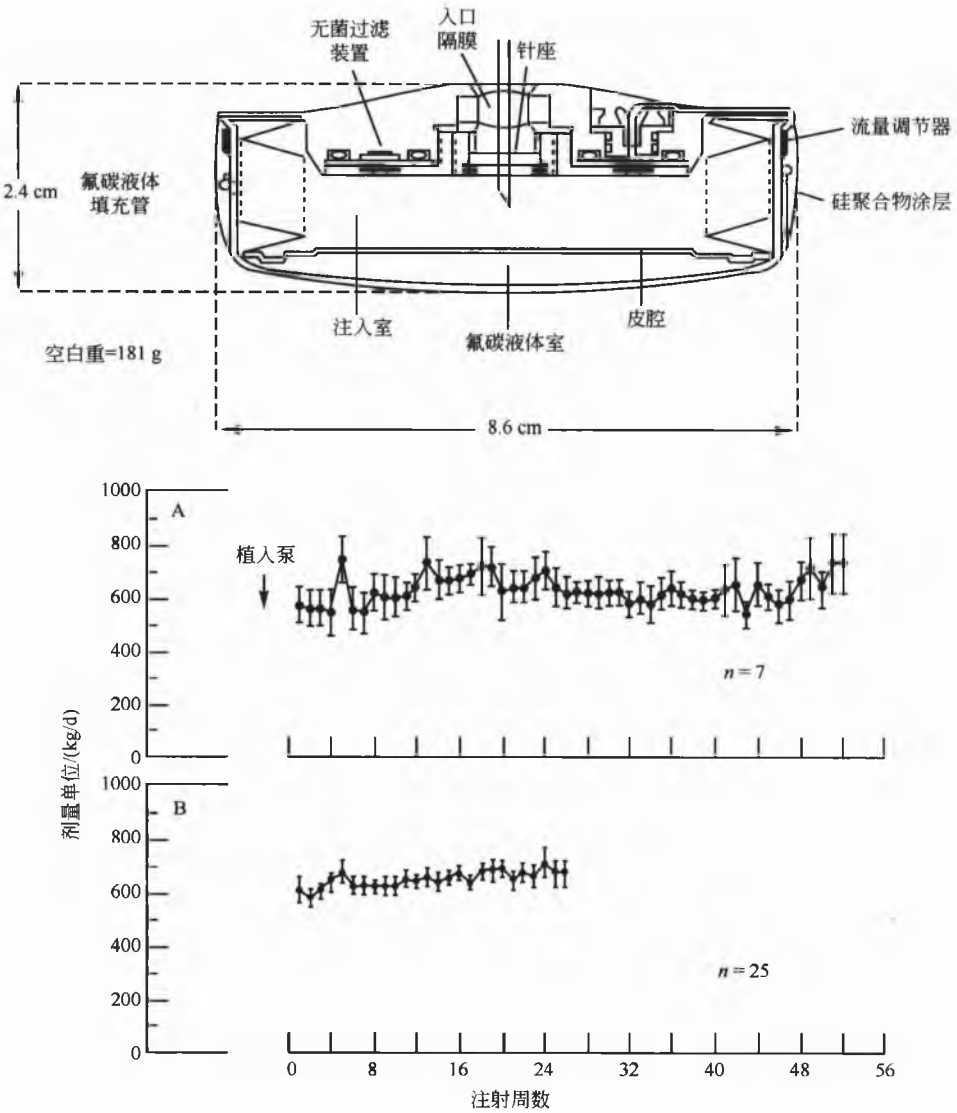


图 21 蒸气压激活型给药系统 Infusaid® 的切面图（上图），以及 25 条狗 6 个月和 7 条狗 12 个月的每日肝素剂量曲线（下图）[34]

$$\frac{Q}{t}=\frac{d^4\Delta p}{40.74\mu l} \qquad (9)$$

式中：d 和 l 分别为给药插管的内径和长度；Δp 为泵室内与植入点的蒸气压差；μ 为药物处方的黏度。

药物从这种 CrDDS 的释放是通过蒸气压激活，并由不同的蒸气压、处方黏度、给药插管的大小来控制其释放速率。Metal Bellows 公司的可植入输注泵 Infusaid® 就是典型的例子，其产品包括用于抗凝的肝素恒速输注给药[34]，用来控制糖尿病的高血糖的胰岛素给药[33]和用于减少晚期癌症患者剧烈疼痛的吗啡给药[35]。

4. 机械力激活型给药系统

这种 CrDDS 药物储库是将药物溶液装入配有机械激活的泵系统。通过手动激活泵给药系统上的喷射头，可将设定好的药物剂量重复喷入体腔，如鼻腔。给药溶液的体积是固定的，并且不依赖于施加的压力和激活持续的时间。

这类给药系统中典型的例子是定量喷雾剂，用于鼻腔内精确给予促黄体生成激素释放激素（LHRH）及其类似物布舍瑞林。通过鼻腔内吸收可以避免这些多肽类药物的肝脏首过效应[24]。

5. 磁激活型给药系统

大分子药物，如多肽，从聚合物膜控型给药系统中释放速度很慢。将电磁触发的振动器装入聚合物给药装置可指示释放的速率。采用半球体的设计，可以达到零级药物释放速率[36]。将这两种方式结合，便可得到用于皮下埋植的磁激活半球给药装置。这种装置的制备是先将细小的圆环磁铁放置于分散有药物且生物相容的聚合物骨架中心，再将除中心扁平表面腔体以外的含药聚合物骨架，用纯聚合物，如乙烯-乙酸乙烯酯聚合物或硅橡胶包衣。未包衣的腔体用于多肽药物的释放。半球磁体给药装置能通过扩散过程及非触发条件下，以基本的低速释放大分子药物，如牛血清蛋白；或者在外部磁场的作用下激发磁体使其以较高的速度释放相同药物。

6. 超声激活型给药系统

这种激活型给药系统是通过超声能激活（或触发）聚合给药装置中的药物释放。可采用非降解聚合物，如乙烯-乙酸乙烯酯共聚物或生物溶蚀的聚合物如聚［双（对羧基-苯氧基）-酸酐］[37]来制备此系统。最近有报道应用超声促渗（或超声导入）调节药物输送[38]。

7. 离子导入激活型给药系统

这种 CrDDS 通过电流激活和调节荷电药物分子的透生物膜扩散，如皮肤，扩散方式类似于被动扩散的顺浓度梯度方式，但速度更快。荷电药物分子 i 通过离子导入，促进的透皮速率由以下三个部分组成：

$$J_i^{up}=J^p+J^e+J^c=(K_sD_s\frac{dc}{h_s})+(\frac{Z_iD_iF}{RT}c_i\frac{dE}{h_s})+kc_sI_d \quad (10)$$

式中：J^p、J^e 和 J^c 分别为被动扩散透过皮肤的流量、电流驱动下透过皮肤的流量和对流驱动下透过皮肤的流量；K_s 为供给液与角质层界面的分配系数；D_s 和 D_i 分别为通过皮肤的扩散系数和皮肤内离子 i 的扩散系数；c_i 和 c_s 分别为离子 i 的供液浓度和其在皮肤组织中的浓度；dE/h_s 为跨皮肤的电势梯度；dc/h_s 为跨皮肤的浓度梯度；Z_i 为离子 i 的化合价；I_d 为外加的电流密度；F、k 和 R 分别为法拉第常数、比例常数和气体常数；T 为绝对温度。

这类激活控制型 CrDDS 的典型例子是 Motion Control 公司的 Phoresor 离子导入给药系统，可经皮透入抗炎药，如地塞米松磷酸钠[39~41]，至表皮组织。

进一步开发离子激活药物给药技术，研制出了一种新的离子导入给药系统——经皮脉冲离子导入系统（TPIS）。这种新系统可产生生理可接受的脉冲直流电，在一个周期内，通过波形、强度、频率、占空比、持续时间的组合使用，从而明显地改善了多肽和蛋白质经皮给药的效率[4]。典型例子是用离子导入经皮给予蛋白药物-胰岛素，用于控制糖尿病动物的高血糖。

8. 水化激活型给药系统

这种 CrDDS 的药物储库均匀地分散于由亲水聚合物制得的可溶胀聚合物骨架中。通过水化诱导聚合物骨架的膨胀，激活和调节药物的释放。这种 CrDDS 的代表品种如下。

8.1 诺孕美特植入剂（Syncro-Male-B 植入剂）

这种皮下 CrDDS 是将诺孕美特（强效黄体酮用于动物的发情）溶解于线形乙烯醇异丁烯酸酯聚合物（Hydron S）的乙醇溶液。加入氧化催化剂，用乙烯二甲基丙烯酸将药物－聚合物混合物交联，制成皮下可埋植的柱形植入剂[1,6]。这种微型的皮下植入剂可通过组织液膨胀激活，并且在皮下组织 16 天内以 504μg/（$cm^2 \cdot d^{1/2}$）的速率释放诺孕美特，用于控制家畜的同期发情[13]。

8.2 地西泮控释片（Valrelease®）

这种口服 CrDDS 将地西泮（一种抗抑郁的药）和水凝胶（20%～75%，w/w）及药物辅料混合制粒，压制成口服片剂。口服给药后，水胶体吸收胃液后激活形成胶体凝胶骨架覆盖在药片表面（图 22）。由于胃液密度（$d>1$）与凝胶片的密度（$d<1$）的不同，药片漂浮在胃中，使地西泮分子可通过凝胶屏障层的扩散控制其释放[2,3]。

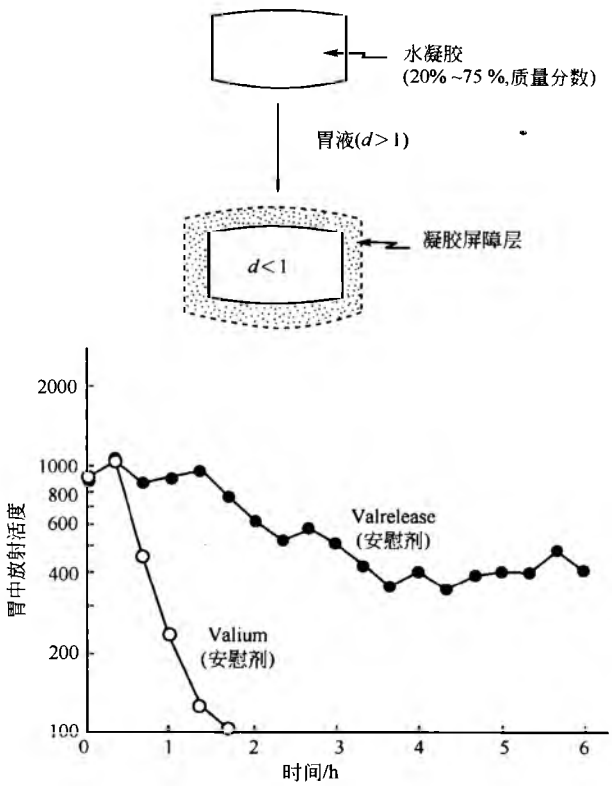


图 22 上图为 Valreletase® 片及水化诱导形成凝胶屏障层的膨胀激活给药系统；下图为 Valrelease® 和普通地西泮胶囊在胃滞留时间的比较[58]

Y

9. pH 激活型给药系统

这种 CrDDS 可将胃中不稳定或对胃黏膜有刺激的药物靶向传递至肠道而不在胃中释放[2]。将对胃液敏感的药物片芯用肠不溶聚合物（如乙烯纤维素）和肠溶聚合物（如邻苯二甲酸醋酸纤维素）的混合物包衣（图 23）。在胃中包衣膜可抵抗胃液（pH<3）的降解，因此可保护药物分子不受酸的分解。胃排空后这种 CrDDS 传递至肠道，肠液（pH>6.8）可将包衣膜中肠溶部分溶解，这样肠溶聚合物微孔膜就可以控制药物从片芯中的释放。药物以受控的方式从片芯中溶解和由孔道中扩散而在肠液中释放。调整包衣膜中肠溶衣与肠不溶衣材料的比例，可以调节药物的给药速率。对胃壁有强烈刺激的氯化钾口服控制给药便是这种 CrDDS 典型的应用。

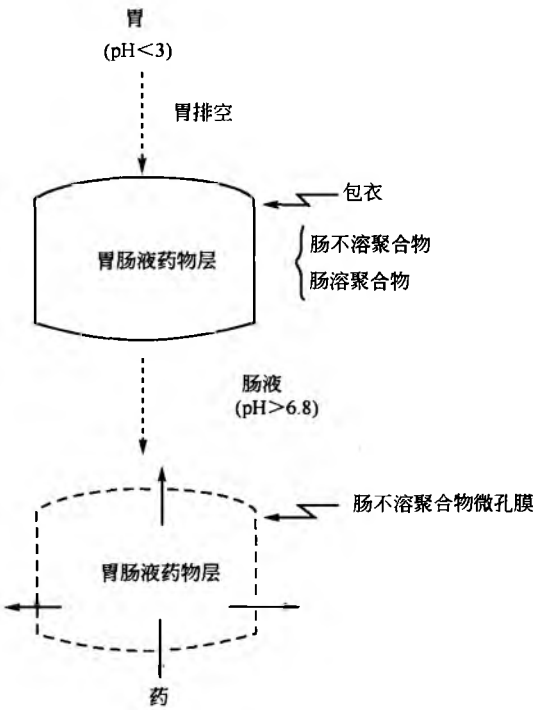
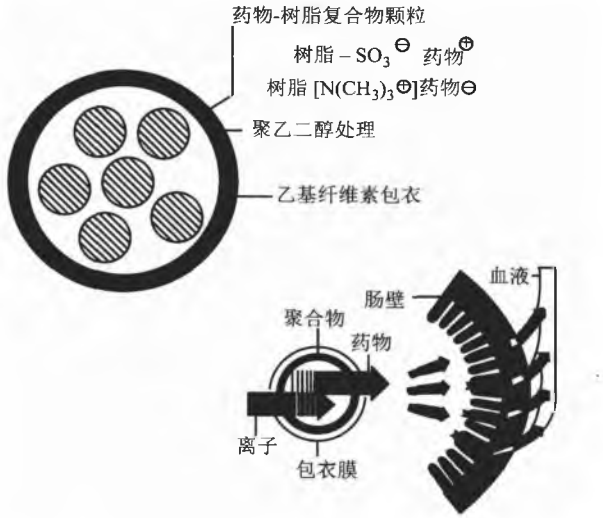


图 23 pH 激活型给药系统和肠道中依赖于 pH 而形成的微孔膜

10. 离子激活型给药系统

为控制离子型或可电离药物的给药，开发出了此类 CrDDS[2]。由于胃肠液通常维持相对恒定的离子浓度，因此，理论上这种 CrDDS 可以调节药物以恒定的速率给药。

这种 CrDDS 的制备是先将可离子化的药物和离子交换树脂混合，如阳离子药物和含有 $-SO_3^-$ 基团的树脂混合或阴离子药物和含有 $N(CH_3)_3^+$ 基团的树脂混合。药物树脂混合物进一步用浸渍剂，如聚乙二醇 4000 处理，以减少与水介质接触后的膨胀率。接着，采用空气悬浮包衣技术，用水不溶但易渗透的聚合膜（如乙基纤维素）进行包衣。此限速膜作为这种 CrDDS 的屏障层，用于调节药物的释放。在胃肠道中氢离子和氯离子扩散至 CrDDS 内，并与药物树脂混合物相互作用，从而使离子药物游离和释放（图 24）。



$$H^{\oplus} + \text{树脂}\text{-}SO_3^{\ominus}\text{药物}^{\oplus} \rightleftharpoons \text{树脂}\text{-}SO_3^{\ominus}H^{\oplus} + \text{药物}^{\oplus}$$

$$Cl^{\ominus} + \text{树脂}\,[N(CH_3)_3^{\oplus}]\text{药物}^{\ominus} \rightleftharpoons \text{树脂}\,[N(CH_3)_3^{\oplus}]Cl^{\ominus} + \text{药物}^{\ominus}$$

图 24 离子激活型给药系统的切面图（上）、其各组成（中）以及离子激活药物的释放（下）[58]

这种 CrDDS 的例子是 Pennwalt Pharmaceuticals 公司的 Pennkinetic® 系统，它可以实现在口服溶液剂中缓慢释放氢可酮和氯苯那敏混合物[14, 42~44]，商品名为 Tussionex®。

11. 水解激活型给药系统

这种 CrDDS 通过水解激发药物分子的释放。其药物储库或是包封于微囊，或是均匀地分散于微球或纳米粒中，也可将其制成植入给药装置。所有的这些系统均采用生物溶蚀或生物可降解的聚合物，如聚乳酸、聚乙交酯丙交酯共聚物、聚原酸酯或聚酐。通过水解诱导聚合物链的降解，可激活药物从聚合物骨架中的释放，控制聚合物降解速度可调节药物的给药速率[45]。典型例子是 Lupron Depot®，可皮下生物合成的促性腺激素（GnRH）类似物-亮丙瑞林微球，用于治疗促性腺素依赖型癌症，如男性前列腺癌和女性子宫内膜异位症，药物持续释放 4 个月。另一个例子是 Zoladex® 系统，用于皮下埋植的生物合成 GnRH 类似物——戈舍瑞林，用于治疗前列腺癌患者（图 25），药效长达 3 个月[14]。

12. 酶激活型给药系统

这种 CrDDS 的药物储库或是物理地嵌入微球中，或是化学键合在如白蛋白或多肽类生物聚合物的聚合链上，在靶组织用特定的酶降解生物聚合物释放药物[46~48]。典型的例子是白蛋白微球，通过蛋白酶激活生物降解，以控制 5-氟尿嘧啶的释放。

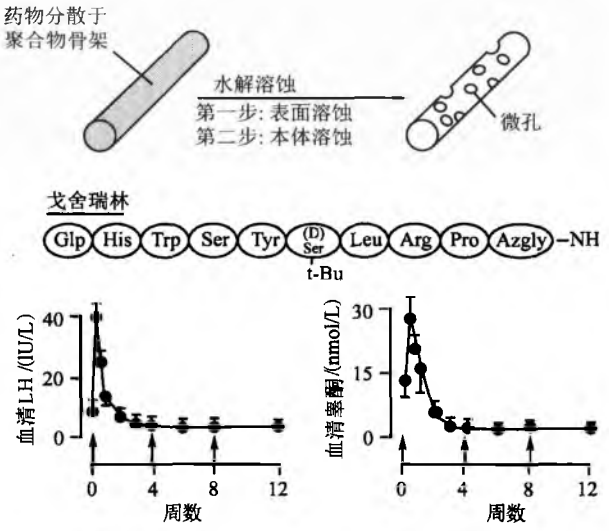


图 25　合成的促性腺激素释放激素——戈舍瑞林氨基酸序列、其从生物可降解的聚乙丙交酯植入剂皮下控制释放以及血浆中促黄体激素及睾酮的水平

反馈调节型给药系统

这种 CrDDS 中药物分子的释放是通过触发介质，如生化物质，在体内经由一些反馈机制来激活（图 2）。药物释放速率的调节是依靠 CrDDS 中的感应器所检测到的触发介质浓度来控制。

1. 生物溶蚀调节型给药系统

反馈调节给药的概念已由 Heller 和 Trescony 应用于生物溶蚀调节 CrDDS 的开发[49]。这种 CrDDS 是将药物分散于由聚乙烯甲醚单酯制得的生物溶蚀性骨架，并包裹一层固定化的尿素酶（图 26）。在近中性的 pH 溶液中，聚合物溶蚀得很慢。但在尿素存在下，系统表面的尿素酶可代谢尿素转化成铵，使 pH 增加，激活了生物骨架的降解和药物分子的释放。

2. 生物响应型给药系统

反馈调节给药的概念也由 Horbett 等应用于生物响应 CrDDS 的开发[50]。这种 CrDDS 的药物储库包封于包有生物响应的聚合膜的装置中，装置上的膜的通透性可通过 CrDDS 所在组织的生物化学成分的浓度来调节。

典型的例子是葡萄糖触发胰岛素给药系统的生物响应 CrDDS，此装置中胰岛素储库包封于挂有 NR_2 基团的水凝胶膜中（图 27）。在碱性溶液中，NR_2 基团处于中性状态使膜保持不溶胀，因此胰岛素不可通透。当葡萄糖渗透过膜后，嵌入在膜上的葡萄糖氧化酶便将其氧化水解形成葡萄糖酸，此过程促使 NR_2 基团转变成 NR_2H^+，引起水凝胶溶胀，胰岛素分子便可渗透释放（图 27）。胰岛素的释放量由生物感应到的渗透通过 CrDDS 的葡萄糖浓度来决定。

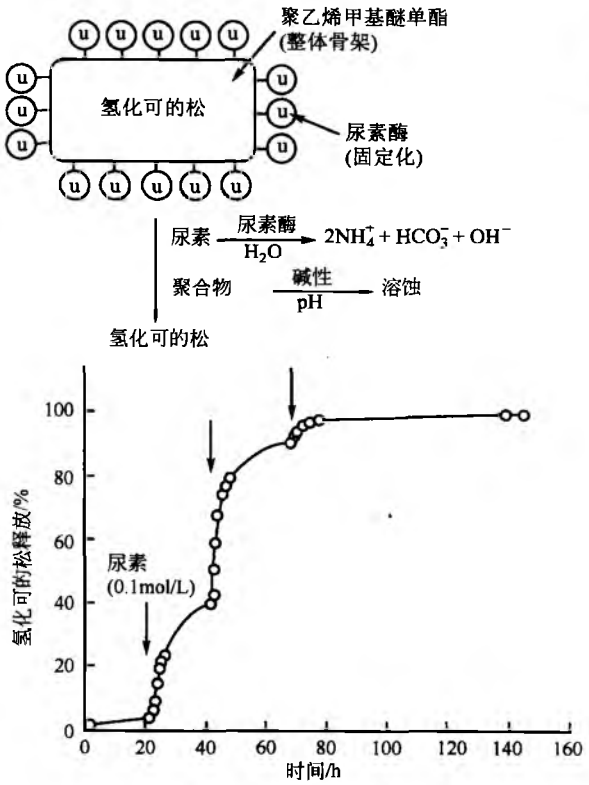


图 26　反馈调节型给药系统。生物溶蚀调节氢化可的松给药系统的切面图，药物分散在整体骨架中，尿素酶固化在其表面。尿素激活释放氢化可的松的释药机制与释药曲线如图中所示[49]

3. 自调节型给药系统

这种反馈调节 CrDDS 通过可逆的竞争结合机制，激活和调节药物的释放。系统的药物储库是将药物混合物包封于半透性的聚合膜中，并由 CrDDS 所在组织的生物化学成分透膜激活这种 CrDDS 的药物释放。

Kim 等首次应用这种可逆结合机制将糖分子和凝集素设计于自调节 CrDDS[51]。这种 CrDDS 中首次将胰岛素偶合在糖上，如麦芽糖，形成的可生物激活胰岛素衍生物，接上凝集素组成胰岛素-糖-凝集素复合物，再将此复合物包封于半透性膜中便制得此 CrDDS。当血糖扩散至 CrDDS，便竞争性地结合凝集素中的结合位点，激活胰岛素-糖衍生物从结合位点释放。CrDDS 中胰岛素-糖衍生物的释放量由葡萄糖的浓度决定。这样便形成了自调节型给药系统。然而，仍有一个潜在问题有待解决，胰岛素的释放量与葡萄糖浓度的变化是非线性的[52]。

进一步将自调节型胰岛素给药系统应用于糖基化胰岛素刀豆蛋白 A 复合物，将其包封于聚合膜中[53]。当葡萄糖渗透过系统，便可激活复合物中糖基化的胰岛素的控制释放（图 28）。因此，系统中胰岛素的释放量由透过胰岛素给药系统的葡萄糖浓度决定。

Y

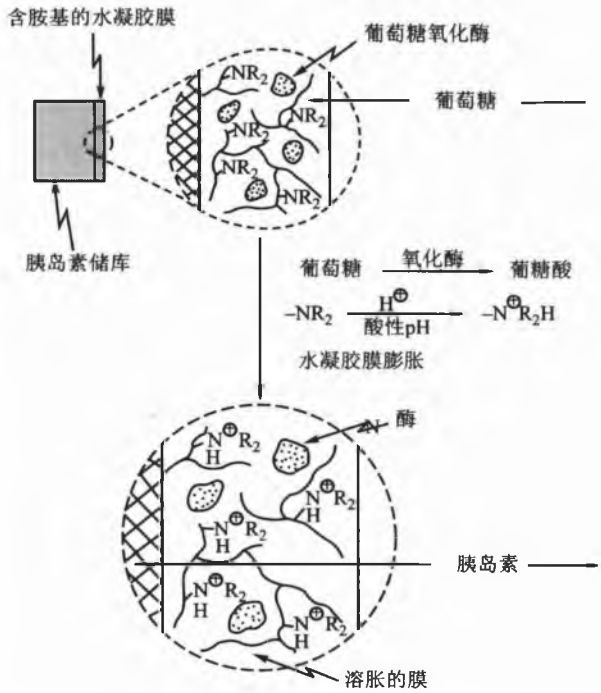


图 27 生物响应型给药系统：胰岛素生物响应型给药系统，葡萄糖氧化酶嵌入含胺基的水凝胶聚合物制得水凝胶膜。葡萄糖的导入及相应的胰岛素的释放机制如图所示[50]

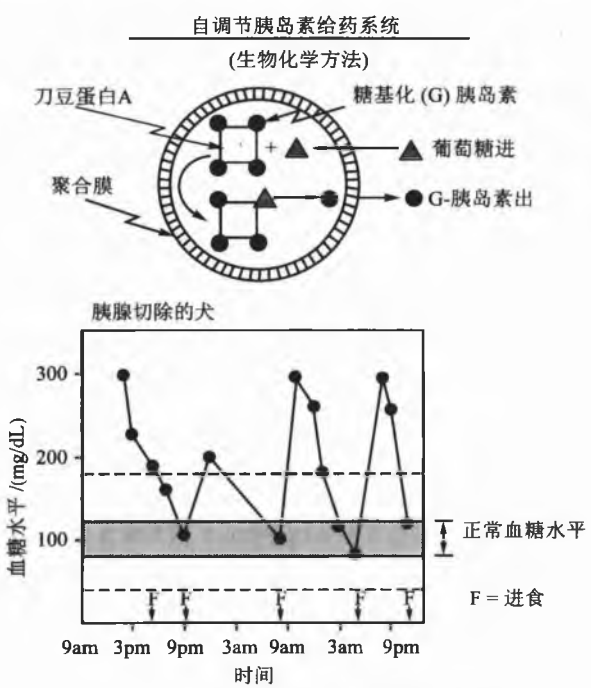


图 28 自调节型给药系统：自调节型胰岛素给药系统的各组成及其对胰腺切除后狗的血糖控制

靶向型给药系统

已知将药物传递至需要治疗的靶组织是一个很复杂的过程，包括很多扩散和分配步骤。上面所概述的 CrDDSs 仅是这复杂过程的第一步。实质上，药物从给药系统中的释放速率已由这些 CrDDSs 设计加以控制，但是将药物分子从给药系统传递至靶组织的路径仍然存在很大的不可控性。

理想上，药物传递路径也应可控，那么就可以达到在最大安全下获得最佳治疗的最终目的。随着特异靶向的 CrDDS 的发展，这种目的可以适当地得以实现（图 2）。一种理想的靶向 CrDDS 已由 Ringsdorf 提出[54]，其模型如图 29 所示。包括非免疫原性的且可生物降解的聚合物作为主链并含有以下三种类型的附属物：①位点特异的靶向部分，能将给药系统传递至靶组织（或细胞）附近；②增溶剂，能使给药系统传递至靶组织并优先被其吸收；③药物部分，通过间隔段共价连接在主链上，这种键只能由靶部位上的特异酶断开。

然而，这种理想的靶向 CrDDS 仅处于概念阶段。其构成仍有很多未解决的问题，对于生物医学和药剂学仍是一个挑战性的任务。

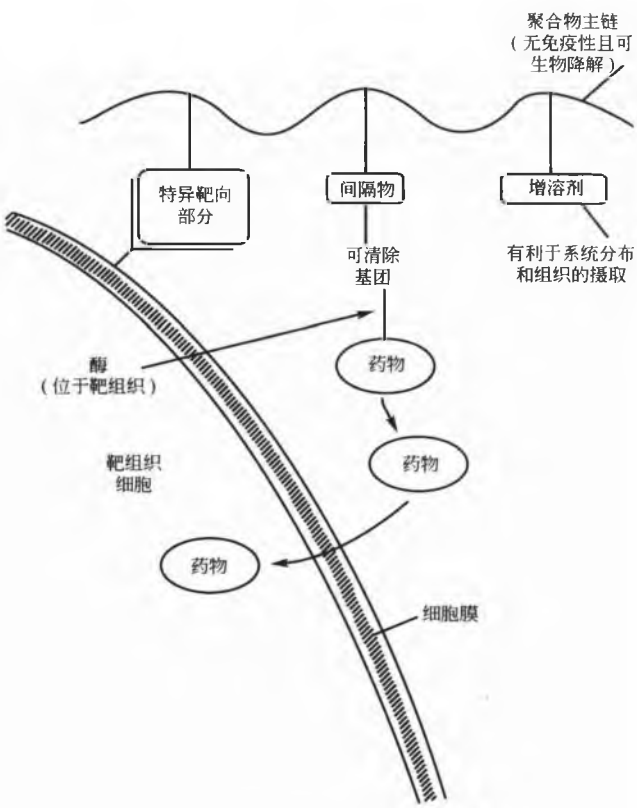


图 29 理想的靶向控制释放系统[54]

结论

这里介绍的控释给药系统自 20 世纪 70 年代中期已不断地引入到生物医学领域。可以相信，这几十年来我们所使用的许多常规的制剂在未来将被这些 CrDDSs 所取代。

参考文献

1. Chien, Y. W. Novel Drug Delivery Systems: Fundamental, Developmental Concepts and Biomedical Assessments; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982.
2. Chien, Y. W. Industrial Pharmaceutical R&D Symposium on Transdermal Controlled Release Medication. Piscataway, New Jersey, January, 14 & 15 1982 Rutgers University, College of Pharmacy, Proceedings Published in Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983; 9, 497—744
3. Chien, Y. W. Industrial Pharmaceutical R&D Symposium on Oral Controlled Drug Administrations Piscataway, New Jersey January, 19 & 20 1983; Rutgers University, College of Pharmacy, Proceedings Published in Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983; 9, 1077—1396
4. Chien, Y. W. International Pharmaceutical R&D Symposium on Advances in Transdermal Controlled Drug Administration for Systemic Medication. Piscataway, New Jersey, June, 20 & 21 1985 Rutgers University, College of Pharmacy Proceedings Published in Transdermal Controlled Systemic Medications; Chien, Y. W., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987.
5. Chien, Y. W. Rate-control Drug Delivery Systems: Controlled Release vs. Sustained Release. Med. Prog. Technol. 1989, 15 (1—2), 21—46.
6. Chien, Y. W. Novel Drug Delivery Systems: Second Edition, Revised and Expanded; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992.
7. Luukkainen, T.; Allonen, H.; Haukkamaa, M.; Lahteenmaki, P.; Nilsson, C. G.; Toivonen, J. Five Years' Experience With Levonorgestrel-Releasing IUDs. Contraception 1986, 33 (2), 139—148.
8. Andersson, K.; Odlind, V.; Rybo, G. Levonorgestrel-Releasing and Copper-Releasing (Nova T) IUDs During Five Years of Use: A Randomized Comparative Trial. Contraception 1994, 49 (1), 56—72.
9. Sivin, I.; Stern, J. Health During Prolonged Use of Levonorgestrel 20 Micrograms/d and the Copper TCu 380Ag Intrauterine Contraceptive Devices: a Multicenter Study. International Committee for Contraception Research (ICCR). Fertil. Steril. 1994, 61 (1), 70—77.
10. Robinson, J. R. Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1978.
11. Baker, R. W.; Lonsdale, H. K. Controlled Delivery-an Emerging Use for Membranes. Chemtech. 1975, 5, 668.
12. Chien, Y. W. Methods to Achieve Sustained Drug Delivery. The Physical Approach: Implants. Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems; Robinson, J. R., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1978.
13. Chien, Y. W. Microsealed Pharmaceutical Delivery Device. US Patent 3, 992, 518, Nov 16, 1976.
14. Physicians' Desk Reference; Medical Economics Company: Montvale, 1999.
15. Segal, S. J. The Development of NORPLANT Implants. Stud. Fam. Plann. 1983, 14 (6—7), 159—163.
16. Diaz, S.; Pavez, M.; Miranda, P.; Robertson, D. N.; Sivin, I.; Croxatto, H. B. A Five-year Clinical Trial of Levonorgestrel Silastic Implants (Norplant™). Contraception 1982, 25 (5), 447—456.
17. Weiner, E.; Victor, A.; Johansson, E. D. Plasma Levels of D-norgestrel After Oral Administration. Contraception 1976, 14 (5), 563—570.
18. Croxatto, H. B.; Diaz, S.; Miranda, P.; Elamsson, K.; Johansson, E. D. Plasma Levels of Levonorgestrel in Women During Longterm Use of Norplant. Contraception 1981, 23 (2), 197—209.
19. Keith, A. D. Polymer Matrix Considerations for Transdermal Devices. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983, 9, 605—625.
20. Hsieh, D. S. T. Subcutaneous Controlled Delivery of Estradiol by Compudose Implants: In Vitro and In Vivo Evaluations. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1987, 13, 2651—2666.
21. Wolff, M.; Cordes, G.; Luckow, V. In Vitro and In Vivo Release of Nitroglycerin from a New Transdermal Therapeutic System. Pharm. Res. 1985, 1, 23—29.
22. Corbo, M.; Liu, J. C.; Chien, Y. W. Transdermal Controlled Delivery of Propranolol from a Multilaminate Adhesive Device. Pharm. Res. 1989, 6 (9), 753—758.
23. Microsealed Pharmaceutical Delivery Device. US Patent 4, 053, 580Oct 11, 1977
24. Chien, Y. W. Microsealed Drug Delivery Systems: Fabrication and Performance. Methods in Enzymology; Widder, K. J., Green, R., Eds.; Academic Press: New York, 1985; 461—470.
25. Sanvordeker, D. R.; Cooney, J. G.; Wester, R. C. Transdermal Nitroglycerin Pad. US Patent 4, 336, 243, June 22, 1982.
26. Karim, A. Transdermal Absorption: A Unique Opportunity for Constant Delivery of Nitroglycerin. Drug De-

Y

velop. & Ind. Pharm. 1983, 9, 671.

27. Theeuwes, F.; Yum, S. I. Principles of the Design and Operation of Generic Osmotic Pumps for the Delivery of Semisolid or Liquid Drug Formulations. Ann. Biomed. Eng. 1976, 4 (4), 343—353.
28. Theeuwes, F. Elementary Osmotic Pump. J. Pharm. Sci. 1975, 64 (12), 1987—1991.
29. De Leede, L. G. J. Rate-Controlled and Site-Specified Rectal Drug Delivery; State University of Leiden: Leiden, The Netherlands, 1983.
30. Theeuwes, F. Oros-Osmotic System Development. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983, 9, 1331—1357.
31. Liu, J.-C.; Farber, M.; Chien, Y. W. Comparative Release of Phenylpropranolamine HCl for Long-acting Appetite Suppressant Products: Acutrim Vs. Dexatrim. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1984, 10, 1639—1661.
32. Michaels, A. S. Device for Delivering Drug to Biological Environment. US Patent 4, 180, 073, Dec. 25, 1979
33. Blackshear, P. J.; Rohde, T. D.; Grotting, J. C.; Dorman, F. D.; Perkins, P. R.; Varco, R. L.; Buchwald, H. Control of Blood Glucose in Experimental Diabetes by Means of a Totally Implantable Insulin Infusion Device. Diabetes 1979, 28 (7), 634—639.
34. Blackshear, P. J.; Rohde, T. D.; Varco, R. L.; Buchwald, H. One Year of Continuous Heparinization in the Dog Using a Totally Implantable Infusion Pump. Surg. Gynecol. Obstet. 1975, 141 (2), 176—186.
35. American Pharmacy, Implantable Pump for Morphine. NS24: 20 1984, .
36. Hsieh, D. S. T.; Langer, R. Zero-order Drug Delivery Systems with Magnetic Control. Controlled Release Delivery Systems; Roseman, T. J., Mansdorf, S. Z., Eds.; Marcel Dekker, Inc. : New York, 1983.
37. Kost, J. Ultrasound for Controlled Delivery of Therapeutics. Clin. Mater. 1993, 13 (1—4), 155—161.
38. Tyle, P.; Agrawala, P. Drug Delivery by Phonophoresis. Pharm. Res. 1989, 6 (5), 355—361.
39. Bertolucci, L. E. Introduction of Anti-inflammatory Drugs by Iontophophoresis: Double Blind Study. J. Orthopaed. & Sports Phys. Ther. 1982, 4, 103.
40. Glass, J. M.; Stephen, R. L.; Jacobson, S. C. The Quantity and Distribution of Radiolabeled Dexamethasone Delivered to Tissue by Iontophoresis. Int. J. Dermatol. 1980, 19 (9), 519—525.
41. Harris, P. R. Iontophoresis: Clinical Research in Musculoskeletal Inflammatory Conditions. J. Orthopaed. & Sports Phys. Ther. 1982, 4, 109.
42. Controlled Release Suspensions, APhA/APS Midwest Reg. Meet.. Chicago Illinois April, 2 1984
43. Prolonged Release Pharmaceutical Preparations. US Patent 4, 221, 778 Sept 9, 1980
44. Raghunathan, Y.; Amsel, L.; Hinsvark, O.; Bryant, W. Sustained-Release Drug Delivery System I: Coated Ionexchange Resin System for Phenylpropanolamine and Other Drugs. J. Pharm. Sci. 1981, 70 (4), 379—384.
45. Heller, J. Biodegradable Polymers in Controlled Drug Delivery. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1984, 1 (1), 39—90.
46. Morimoto, Y.; Fujimoto, S. Albumin Microspheres As Drug Carriers. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1985, 2 (1), 19—63.
47. Sezaki, H.; Hashida, M. Macromolecule-drug Conjugates in Targeted Cancer Chemotherapy. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1984, 1 (1), 1—38.
48. Heller, J.; Pengburn, S. H. A Triggered Bioerodible Naltrexone Delivery System. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1986, 13, 35—36.
49. Heller, J.; Trescony, P. V. Controlled Drug Release by Polymer Dissolution. II: Enzyme-mediated Delivery Device. J. Pharm. Sci. 1979, 68 (7), 919—921.
50. Horbett, T. A.; Ratner, B. D.; Kost, J.; Singh, M. A Bioresponsive Membrane for Insulin Delivery. Recent Advances in Drug Delivery Systems; Anderson, J. M., Kim, S. W. Eds.; Plenum Press: New York, 1984; 209—220.
51. Kim, S. W.; Jeong, S. Y.; Sato, S.; McRea, J. C.; Feijan, J. Self-Regulating Insulin Delivery Systema-A Chemical Approach. Recent Advances in Drug Delivery Systems; Anderson, J. M., Kim, S. W., Eds.; Plenum Press: New York, 1983; 123.
52. Baker, R. W. Controlled Release of Biologically active Agents; J. Wiley & Sons: New York, 1987.
53. Jeong, S. Y.; Kim, S. W.; Eenink, M. J. D.; Feijen, J. Self-Regulating Insulin Delivery Systems. I. Synthesis and Characterization of Glycosylated Insulin. J. Controlled Release 1984, 1, 57—66.
54. Ringsdorf, H. Synthetic Polymeric Drugs. Polymeric Delivery Systems; Kostelnik, R. J., Ed.; Gordon and Brech: New York, 1978.
55. Chien, Y. W. Logics of Transdermal Controlled Drug Administration. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983, 9, 497—520.
56. Noonan, P. K.; Gonzalez, M. A.; Ruggirello, D.; Tomlinson, J.; Babcock-Atkinson, E.; Ray, M.; Golub, A.; Cohen, A. Relative Bioavailability of a New Transdermal Nitroglycerin Delivery System. J. Pharm. Sci. 1986, 75 (7), 688—691.
57. Chien, Y. W. Microsealed Drug Delivery Systems: Theoretical Aspects and Biomedical Assessments. Recent

Advances in Drug Delivery Systems; Anderson, J. M., Kim, S. W., Eds.; Plenum Press: New York, 1984; 367—387.

58. Chien, Y. W. Potential Developments and New Approaches in Oral Controlled Release Drug Delivery Systems. Drug Develop. & Ind. Pharm. 1983, 9, 1291—1330.

（陈 昂 译）

Y

药物输送：口服结肠定位给药

Vincent H. L. Lee
Suman K. Mukherjee
University of Southern California, Los Angeles, California, U. S. A.

引言

一直以来，口服给药是人们使用最方便、最普遍的给药手段。同时，随着缓控释给药系统的发展，口服给药途径更是受到了极大的关注。这是因为口服给药的处方设计比非肠道给药更容易，患者也容易接受。相对于多数非肠道给药，口服给药是一种相对安全的给药途径，而且对于无菌的要求以及对给药部位造成的潜在危险都是最小的。

结肠定位给药系统在治疗上有一些优势。在许多结肠疾病，如结肠癌、克罗恩疾病（Crohn's disease）和痉挛性结肠疾病上，它比全身给药更有效[1]。结肠给药可以通过口服给药或直肠给药来实现。直肠给药（栓剂和灌肠剂）的制剂由于药物通过这条途径在体内的分布存在高度变异性，因而该方法并不总是有效。其中，栓剂由于扩散有限，所以只能在直肠部位有效，而灌肠剂仅限于回肠和降结肠部位疾病的治疗。因此，口服给药的途径受到大家的欢迎。活性成分在胃肠道上段被吸收和代谢，这是口服给药途径的一个主要障碍，要想成功实现结肠定位给药，就必须解决这一问题。

能在结肠吸收的药物（如多肽和蛋白）可以经该部位给药而达到全身吸收。胃肠道的消化酶通常可以分解这些物质。然而，与胃肠道上段消化酶的数量相比，结肠部位存在的消化酶的数量明显要少[2]。

人们从改变胃肠道生理参数入手寻找突破口，通过各种方法来实现结肠的定位给药[1,3]。这些方法包括使用前体药物、pH 敏感性聚合物、细菌降解性聚合物、水凝胶和骨架型基质，以及采用复合包衣的时间依赖性给药系统。这些结肠靶向给药方法的应用在下面将有详细的描述。

结肠的组织学、生理学和生物化学特性

在大小和复杂性方面，人的结肠介于肉食动物和草食动物之间。肉食动物，如鼬鼠，其直肠和结肠之间连接的很模糊；草食动物，如大鼠，则有大量的盲肠。人的结肠由盲肠、升结肠、横结肠、降结肠、乙状结肠共同组成，大约长 1.5m，其中，横结肠是最长、最易活动的部分（图 1）[4]。与小肠不同，结肠没有任何绒毛，但由于存在月骨褶，即新月褶，结肠的表面积增加到大约 1300cm²[3]。结肠近端和末端的生理机能在某些方面不尽相同，从而能影响药物在各个部位的吸收。结肠腔内容物的生理性状也从盲肠段的液体变化成末端的半固体状态。



图 1 右结肠、横结肠、左结肠[9]

结肠有四个主要功能：①为结肠微生物（比如，类杆菌、真菌和肠杆菌）的生长创造了一个合适的环境；②储存排泄物；③适当时候排出结肠内容物；④从结肠腔中吸取水分、Na^+，聚集排泄物，分泌 K^+ 和 HCO_3^-。[5] 盐皮质激素刺激结肠主动分泌 K^+。

影响药物结肠吸收的因素如表 1 所示。结肠定位给药的原理基于两个生理因素，即肠道 pH 水平和药物在结肠里的通行时间。

表 1 影响药物结肠吸收的因素[8]

序号	影响因素
1	药物物理性质（如 pK_a，电离程度）
2	胃肠道运动引起药物在结肠里的滞留
3	生物酶的降解
4	黏液的选择性和非选择性吸附
5	药物的局部生理作用
6	病理状态
7	吸收促进剂、酶抑制剂或生物黏附剂的使用

胃肠道 pH 水平受自身和外界条件变化的影响，饮食、疾病、进食都会影响胃肠道内液体的 pH。

人们利用胃肠道内 pH 的变化来研制结肠靶向给药[6]。通过包衣可以使药物在较低 pH 的胃里完整无损，在中性环境中又可溶解，这样就可达到结肠定位给药的目的。结肠的升段、横段和降段的 pH 从 6.4、6.6 到 7.0 各不相同[7]。结肠的 pH 通常比小肠的更低，小肠的 pH 高达 8 或 9[7]。模拟胃肠道不同 pH 区域的体外试验表明，由 pH 变化引起的药物释放能在小肠里实现[8]。但其他研究认为，

可以利用 pH 帮助药物在结肠里释放[6]。产生这种矛盾的原因可能是因为体外试验是非标准化的，或者是由于药物性质和给药系统的制备方法不同而引起的。在试制动物的结肠定位给药时，pH 的个体差异是需要考虑的一个主要问题，同时也给人类用药提供了信息[4]。

通过口服途径达到结肠给药，依赖于胃的排空和药物通过小肠的时间。饭前服药通常 1h 能从胃里排空，但若饭后服药却需要 10h。药物通过小肠的时间是相对恒定的，无论是什么情形，如身体状况、制剂大小，还是食物在胃里的存在，一般都需要 3～4h[9]。

药物在结肠里吸收的一个主要决定性因素就是其在结肠某一特定部位的滞留时间。食物通过结肠的时间，亦即食物在肠道里的时间。对健康受试者的试验发现，摄入的标记物排泄出 50%需要大约 78h，但也有个体差异，从 18～144h 不等。摄入标记物几天后，平均通行时间的稳态测定结果显示，平均时间需要 54.2h[10]。

当制剂达到结肠时，其通行时间取决于制剂的大小。小颗粒通过结肠的时间比大颗粒要慢得多（在试验第一天，直径 3mm 的片剂通行时间需要 236min，6mm 的需要 238min；试验第二天，直径 9mm 的片剂通行时间需要 226min，6mm 的需要 229min；试验第三天，直径 12mm 的片剂通行时间需要 218min，6mm 的需要 219min）[11]。然而，较大单粒的密度和大小对其在小肠里的通行时间无实质性影响。有研究显示，丸剂通过升结肠的速度比片剂更快，因而在结肠吸收方面比片剂更有利[11]。

结肠的通行时间受食物的影响甚微，但在胃肠压力下时间会缩短。有研究表明，作用于副交感神经和交感神经系统的药物能影响小肠道的推进活动，因而也能影响结肠的通行时间[12]。尽管大多数疾病对通行时间无显著性影响[13]，但腹泻患者的结肠通行时间更短，而便秘患者的则更长。

结肠的渗透和代谢特征

1. 药物在结肠里的渗透

药物在结肠内的吸收受许多因素的限制。结肠末端存在相当多的菌群，会影响药物的生物利用度[14]。结肠上皮层表面存在的黏液组织，由于其对药物有特异性和非特异性的黏附，从而是影响药物吸收的一个生理性屏障。黏附于肠腔的药物通过延长滞留时间，有利于被酶解或降解。头孢菌素、青霉素和氨基葡萄糖是一些小分子药物，容易被带负电荷的黏液吸附[15]，这种吸附同样能阻碍药物达到结肠上皮层表面。有一些分子，如卡巴胆碱、5-羟色胺，能够刺激黏液的分泌，因此不仅会降低自身的吸收，同时也会使随同服用的药物的吸收减少[16]。利用溶黏蛋白剂消除掉黏液障碍，就能够增加药物的吸收。Schipper 等发现，壳聚糖能显著影响无黏液的 Caco-2 细胞层的渗透功能，使阿替诺尔的渗透性提高 10～15 倍[17]。将壳聚糖黏附于上皮层表面，其对于黏液覆盖的 HT-29-H 细胞的吸收促进功能显著降低。

影响药物吸收最可怕的一个屏障就是结肠的上皮组织[18]。结肠细胞的类脂双分子层和细胞之间的咬合连接复合体（OJC）是影响药物吸收的一个物理屏障。胃肠道内细胞顶颈的 OJC 结构会限制水和小分子（小于 350Da）以阳离子选择的方式进行细胞旁转运[19]。水分子和离子通过细胞旁途径的这种运动是由跨细胞的离子梯度造成的，并且结肠近端似乎比结肠末端略微有助于这种运动[20]。

结肠内载体介导的吸收并不多，通常与残留细菌的代谢有关[21]。穿过上皮层细胞顶点到达基底外侧的药物，可以通过跨细胞途径（即直接通过结肠细胞），或者通过细胞旁途径（即通过结肠细胞的邻近部位）。有人发明了数学模型，对小分子药物通过这些障碍的转运行为进行相关描述[22]。多肽的这种运动主要取决于氢键[23]。和多肽相比，蛋白质分子通过细胞膜则需要克服更大的热力学障碍，而且接触面更容易发生受损变性。

药物分子克服了结肠黏膜组织的物理和酶解障碍，就能够进入毛细血管床或淋巴窦。一方面，从黏膜下层组织到达静脉毛细管的药物，通过肝门静脉被系统带到肝组织，在那里被充分代谢掉；另一方面，被结肠淋巴窦吸收的药物则直接进入全身血液循环，从而减少被吸收药物的代谢损失[3]。

2. 药物在结肠中的代谢

肝和小肠里的代谢反应已经得到公认[24]，但结肠内药物代谢的研究信息却很少。结肠内的药物代谢可能是由上皮细胞上宿主酶或肠道菌群的微生物酶引起的。结肠壁的代谢活性可能是由细胞色素 P450、酯酶、酰胺酶和各种转移酶产生的[25]。但还原性药物在此位置的代谢似乎并不重要。

在代谢酶范围方面，结肠黏膜与小肠黏膜相似[26]。但由于肠下端的黏膜质量比上端要小好几倍，所以结肠壁总的代谢能力更低，但这种低代谢能力会在大肠菌群的高代谢能力下得到充分的弥补。

胃肠道有各种各样的微生物对摄入的物质进行分解（表 2 和表 3）[27]。胃肠道的上部分仅有少量的初级革兰氏阳性菌，结肠内有大量的初级厌氧菌，如最常见的 Bacteriods、Bidobacterium 和真菌[28]，革兰氏阳性球菌，如梭状肠球菌和各种肠杆菌也有存在[29]。细菌的生长是由胃酸、肠蠕动和微生物包括细菌代谢副产物的相互作用而调节的。抗生素给药、病发初期以及年龄都能影响肠道微生物的代谢活性[30]。

氧化还原反应和水解反应是肠道微生物群诱发的主要代谢转化反应。由肠道菌群产生的初级还原酶是硝基还原酶、脱氨基酶、脱羟基酶和偶氮还原酶。水解酶是 β-葡萄糖醛酸酶、β-木糖苷酶、α-L-阿拉伯糖苷酶。MaCfarlane 及其同事的研究表明，结肠里也可以发生蛋白的水解[31]。最近的研究发现，人体内蛋白的细菌性发酵有 17%是由盲肠

里的短链脂肪酸，38%是由乙状结肠和直肠的短链脂肪酸造成的[32]。

表 2 人体结肠内能催化还原反应的生物降解酶

酶	微生物	催化的代谢反应
硝基还原酶	大肠杆菌	还原芳香族和杂环硝基化合物
偶氮还原酶	梭菌、乳酸杆菌、大肠杆菌	还原裂解偶氮化合物
N-氧化还原酶，硫氧化物还原酶	大肠杆菌	还原 *N*-氧化物和硫氧化物
氢化酶	梭菌、乳酸杆菌	还原含碳基团和双链脂肪酸

表 3 人体结肠内能催化水解反应的生物降解酶

酶	微生物	催化的代谢反应
酯酶和酰胺酶	大肠杆菌，*P. vulgaris*，*B. subtilis*，*B. mycoides*	裂解羧酸中的酯键或酰胺键
葡糖苷酶	梭菌，真菌	裂解乙醇和酚的 β-葡糖苷键
葡糖醛酸苷酶	大肠杆菌，产气菌	裂解乙醇和酚的 β-葡糖醛酸苷键
硫酸酯酶	真菌，梭菌，链球菌	裂解 *O*-硫酸盐和氨基磺酸盐

结肠里微生物群独特的酶解特性有助于实现靶向给药。用于局部治疗的活性代谢产物通过微生物降解，可以从难吸收的原型药物中释放出来。利用这种优势，可以研制仅在细菌酶作用下裂解并得到释放的靶向给药。这种方法也比较适合那些在胃肠道上段不被吸收但在下段能被吸收的药物分子。

适用于结肠给药的药物性质

结肠环境没有胃和小肠那样恶劣[33]，药物在结肠里停留时间更长，能相应地增加难吸收药物的结肠吸收[34]。将那些治疗结肠炎和刺激性结肠综合征疾病的药物研制成结肠靶向，则会从中受益。在胃肠道上部要被分解的药物，也可以考虑将其研制成结肠靶向给药。一些药物，如茶碱、利福平、布洛芬、双氯芬酸、小分子多肽和类多肽药物，已经显示出在结肠里有很好的吸收[35]。

结肠上皮细胞的通透性还不足以满足治疗所需的转运能力，但这种障碍至少部分可以通过提高上皮细胞的通透性而得到克服（表 4）。这些手段包括使用螯合物、非甾体抗炎物质、脂肪酸和表面活性剂[36]。比较它们作用于治疗黏膜的发病和愈合的速度[37]，研究发现，脂肪酸作用强烈且迅速，能快速恢复黏膜的屏障功能；胆盐和水杨酸强度适中，反应迅速，可以使黏膜功能快速恢复；表面活性剂反应较强或适中，能缓慢恢复黏膜功能。一些溶剂，如二甲基亚砜和乙醇，反应缓和，主要作为混悬剂，在水溶性环境中可以帮助药物较好地混合。上述这些促渗剂在小肠里同样有效[22]。还有一些更好的结肠定位促渗剂，如乙醛、乙酰、乙酸，但它们必须首先代谢转化为烯胺[38]。

表 4 常见的药物吸收促渗剂

1	非甾体类抗炎剂（NSAIDS）（吲哚美辛和水杨酸等）
2	钙离子螯合剂（EDTA 和柠檬酸等）
3	表面活性剂［聚氧乙烯十二烷基醚（BL-9EX）和皂角苷等］
4	胆汁盐（牛胆磺酸盐和甘氨磺酸盐等）
5	脂肪酸（奎酸钠、辛酸钠、月桂酸钠、油酸钠等）
6	混合微胶粒（单油甘油酸酯-牛胆磺酸盐，油酸-聚氧乙酸-氢化蓖麻油，油酸-甘氨胆酸盐等）
7	其他（酰基肉毒碱，氮酮，二羟酸和烯胺等）

一些化学促渗剂，如乙二胺四乙酸钠、牛磺酸钠、油酸[37]、聚氧乙烯非离子表面活性剂、柠檬酸，以及二羟胆汁盐，大概是通过分裂细胞的 OJC 结构，从而打开细胞旁通道[37]。使用含氮氧化物是另一种方法[39]。此外，利用环氧化酶的活性引发释放 P 物质，为改变结肠细胞的通透性提供了另一个途径[40]。

一些诸如奎酸盐、辛酸盐和水杨酸盐的分子在较低浓度时，能使难渗透化合物通过结肠黏膜[41,42]，促进其跨细胞转运。一些吸收促渗剂也会引起局部刺激[43]。有研究报道，这些促进剂能使膜蛋白变性和（或）改变类脂蛋白的相互作用，从而使药物吸收[37]。混合胶团可能通过减少表面活性剂的副作用和增强其促渗作用，仅仅限制结肠黏膜细胞表面的无序性。表面活性剂、脂肪酸和混合胶团可以提高被转运药物的溶解性或稳定性，从而促进其吸收。

一些性质稳定的分子，如右旋糖酐和聚乙二醇，已经在研究中被用来确定结肠中能开放的转运窗口的大小。Muranishi 和 Takada[44] 已证实，在转运促进方面，低相对分子质量的药物直接通过跨细胞途径的频率是通过细胞旁途径的 2 倍。但是分子质量大约为 20kDa 的分子通过这两种途径的次数几乎相等。奎酸盐、月桂酸和混合胶团能促进转运，这说明结肠通道孔径在 14～16Å，但牛胆磺酸和辛酸酯的行为则说明孔径在 11～12Å[37]。

已有研究证实，化学促渗剂能够在结肠上皮细胞上产生足够大的转运窗口，能使细菌毒素通过。患有结肠炎和大肠炎的患者由于细菌毒素、肠毒素和细胞毒素的通过，增加了毛细血管的通透性，所以结肠通透性也有所增加[45]。病理状态下结肠的通透性增加，可能会对治疗有所帮助。这时若改善条件，可以降低黏膜的通透性，从而自然地减少药物转运。

结肠定位给药的手段

人们已经努力寻找各种方法来实现结肠给药，包括：

①使用前体药物；②使用聚合物包衣（对细菌酶敏感的酶解性肠衣、酶解性基质和水凝胶）。

1. 前体药物

用于治疗节段性回肠炎、溃疡性结肠炎和类风湿关节炎疾病的柳氮磺吡啶（SAS）是最早应用于结肠靶向给药的例子（图 2、图 3）[1]。若口服给药，仅有 12%的药物被小肠吸收。但通过结肠给药方式，当 SAS 经口服后达到结肠，在结肠细菌作用下其偶氮键裂开，释放出 5-氨基水杨酸和磺胺嘧啶到结肠腔[46]。研制的奥柳氮钠，2 分子 5-氨基水杨酸通过偶氮键相连[47]，能直接释放出 5-氨基水杨酸。巴柳氮是另一种前体药物，其载体毒性比 SAS 更小。巴柳氮的结构是由重氮基将 5-氨基水杨酸和 4-对氨基苯-β-丙氨酸连接而成[48]。

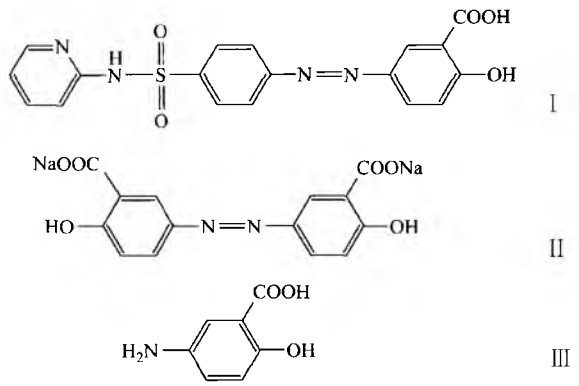


图 2　柳氮磺吡啶（Ⅰ），偶氮水杨酸（Ⅱ），5-氨基水杨酸（Ⅲ）的化学结构[1]

含有载体分子（多糖酶）的聚磺胺乙烯聚合物前体药物，通过偶氮键与 5-氨基水杨酸连接，大鼠试验发现，5-氨基水杨酸从 SAS 和这种前体药物中都能全部释放[49]，但后者在豚鼠的溃疡性结肠炎模型中能更有效地减少炎症。5-氨基水杨酸从前体药物中的释放取决于聚合物的骨架结构[50]。但是 5-氨基水杨酸与聚合物骨架结构结合在一起存在一个缺点，即不得不增大口服剂量。

第二种方法就是利用像葡糖苷酶和多聚糖酶这样的生化酶[51]。研制的这类前体药物是通过 β-葡糖苷键将葡萄糖或半乳糖连接到类固醇上，如地塞米松、氢化泼尼松及氟氢可的松。这些极性的前体药物经口服在小肠里吸收很少。在结肠中，葡糖苷酶裂解极性双键，释放出类固醇。皮质激素已经通过这种方法来治疗大肠疾病。另外，通过这种方式可以减小皮质激素的剂量，使其在小肠里的吸收减小从而使副作用降到最小。地塞米松以前体药物的形式给药，在豚鼠试验中作为模型药物，经口服也产生了同样的治疗效果，并且前体药物的剂量更低[52]。这种方式可以用来研制布地奈德和薄荷醇的糖苷类前体药物，以及地塞米松 L-天冬氨酸的前体药物[53]。

利用这种前体药物的方法，通过酯键将萘普生与右旋糖酐相连[54]。萘普生在猪的盲肠和结肠里的释放量比在对照组和小肠组中的高 17 倍。有人研制了甲基氢化泼尼松和地塞米松的右旋糖酐前体药物[55]。在这两个例子中，大部分药物在大肠内容物中释放，而在胃肠道的上部分仅发生极少的化学水解反应。

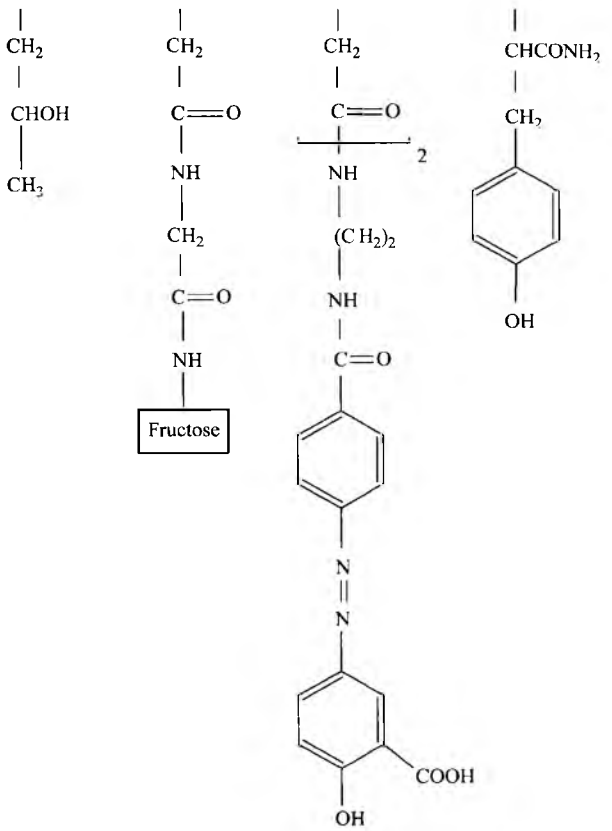


图 3　5-氨基水杨酸的聚合物前体药物[1]

近来有研究报道使用环糊精。环糊精在小肠里仅有少量吸收，但在结肠里能被酶解。还有研究报道使用联苯乙酸与 β-环糊精的结合物[56,57]。当与大鼠盲肠内容物一起培养时，酯键结合能优先释放药物；但当与胃和小肠内容物一起培养时，研究结果发现几乎无药物的释放。

因此可见，前体药物的方法由于能增加药物的结肠吸收，所以得到广泛应用。由于结肠内微生物的数量随饮食、健康状况和各种抗生素而有所变化，所以从前体药物到体内活性成分变化的一致性，是这种给药方式需要考虑的问题[29]。

2. 聚合物

2.1　肠溶衣

药物利用胃肠道 pH 不同的优势，能够局部且选择性地定位于结肠。胃肠道中胃的 pH 较低，但小肠和大肠的 pH 有所增加。为了实现结肠靶向给药，包裹肠溶外衣（如醋酸纤维素邻苯二甲酸盐）可以保护药物在胃酸环境下不受破坏。在小肠中（pH＝7.5），肠衣溶解，暴露出甲基纤

Y

维素、微晶纤维素和增塑剂的聚合物包衣层。这样设计的聚合物包衣，能使制剂在小肠里完好无损直到结肠。在结肠中，细菌分解微晶纤维素，使包裹药物的聚合物衣层裂解。这种设想已被 Hirayama 等的研究所证实[56]。通过这种方法，双层包衣片能够在胃里保存完好，而在结肠中85%的药物被分解。

这种给药方式的问题在于，肠道内 pH 由于受饮食、疾病以及脂肪酸、二氧化碳和其他代谢产物存在的影响而不稳定，而且胃肠道的 pH 受自身和外界环境的影响，个体差异明显，这就为再生药物在大肠内释药带来了一个主要问题[58]。

Villar-Lopez 及其同事研制了含有 5%去炎松丙酮化合物的球形药丸[59]，以微晶纤维素和（或）亲水性赋形剂，如乳糖、羧甲基纤维素钠（CMCNa）或 β-环糊精为处方，经挤出/滚圆成型。包衣材料是否适用于结肠给药，可以通过制剂的体积、圆整度及溶出试验进行评价。最好的研究结果显示，包衣组成是微晶纤维素、β-环糊精和去炎松丙酮化合物以 5∶90∶5 的比例混合，制备时先将 β-环糊精和药物进行包合，再加入微晶纤维素。

现已上市的 5-氨基水杨酸制剂利用 pH 敏感的丙烯酸（Eudragit®）树脂（图 3）作为肠溶衣。Eudragit 的水溶性和水不溶性制剂都可用来研制结肠给药。Eudragit L 在 pH>5.6 时能溶解，所以可作为肠溶衣；Eudragit S 尽管无定位功能[60]，但在 pH>7.0 时能溶解（由于结构中存在的酯基比羧基更多），所以可用于结肠定位。

Khan 等[61]利用 Eudragit L 和 Eudragit S 进行不同的组合包衣，制备了乳糖安慰片。研制的 Eudragit L-Eudragit S 复合物比例有 1∶0、4∶1、3∶2、1∶1、2∶3、1∶4、1∶5和 0∶1（质量比）。片剂的崩解数据证明其崩解速率取决于：①包衣的聚合物组成；②崩解介质的 pH；③包衣的级别水平。

研究发现，未酯化的邻苯二甲酸聚合物在较低 pH 环境中的溶解，比丙烯酸或甲基丙烯酸聚合物更快。溶解介质中赋形剂和电解质盐的存在，也会影响溶解速度[62]。

Peeters 和 Kinget[62]近来的研究发现，将 Eudragit-S 的游离羟基部分甲基化得到的产品，与原来相比，可以在稍高的 pH 的水中溶解。这种包衣材料作为结肠定位给药，经受试者体内闪烁法试验，已被证实有效[63]。

Gazzaniga 及其同事[64]研制了一种具有一个核心和两层聚合物衣层的口服制剂。外层肠溶衣层能在 pH>5 时溶解；内层衣由羧乙基甲基纤维素组成，它作为阻滞因子可以延迟药物在预定时间内释放。内层衣的厚度决定了药物的滞后时间。大鼠试验发现，药物在结肠里的释放从第 5 小时开始，第 10 小时结束。

脉冲也叫做定时给药，这种给药系统的固体制剂外层是疏水性表面活性剂包衣层，这样可以帮助内层的水溶性聚合物衣层更好地黏附于制剂内核[65]。外衣层的厚度决定了药物在亲水性介质中崩解所需的时间。当外衣层崩解后，制剂内核也就相应崩解。这种给药系统的优点在于，普通的制剂辅料也可用来制备。人体志愿者试验发现，药物的延迟时间不受胃里停滞时间的影响，并且疏水层的崩解既不受胃肠道分解酶的影响，也不受胃机械运动的影响。

另一种基于同样原理的给药系统叫做时控触发型释药系统[67]它是多层球形结构：含药内核、吸水膨胀层，以及由乙基纤维素构成的水不溶性聚合物膜。这种给药系统的特点在于，在延迟释药的同时又能迅速释药。当聚合物膜接触水时，膨胀因子开始膨胀最终破裂，导致被包裹的药物释放。药物的释放不受 pH 影响，但滞后时间受外层聚合物膜厚度的影响。利用同样的方法，将乙烯-乙酸乙烯聚合物作为包衣层，使单硝酸异山梨酯在结肠里得到释放[68]。

Ishibashi 及其同事最近研究了一种基于 pH 敏感性和时控释药原理的结肠靶向胶囊（图 4）[69]。这种系统将有机酸作为一种 pH 调节剂，和药物一起被放入坚硬的明胶胶囊里，然后再对胶囊进行包衣。包衣有三层，分别是酸溶层、亲水层和肠溶层。其作用机制是：服用胶囊后，这些包衣层可阻止药物提前释放，直到有机酸将其溶解，胶囊内 pH 降低，酸溶性衣层溶解，从而使被包裹的药物可迅速释放。因此，药物释放的起始时间受酸溶性衣层厚度的控制。实际上，无论是饭前还是饭后服用，胶囊的崩解（药物释放）要直到 5h 后胃排空才会开始。

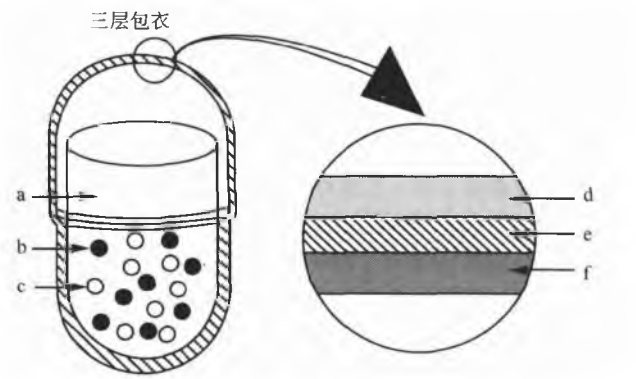


图 4 结肠靶向给药胶囊的设计原理。（a）明胶胶囊；（b）活性药物；（c）有机酸；（d）肠溶衣层；（e）亲水层；（f）酸溶性衣层[69]

近来，Yoshikawa 等[70]报道了一种浆法体外溶出试验方法，可用来研究压力控制型的结肠给药胶囊。利用这种溶出方法，研究了对乙酰氨基酚的体外恒速释药，以及其他两种在结肠里溶解度小的药物：替加氟和 5-氨基水杨酸。试验发现，体外的溶出速率与体内的吸收速率二者之间存在较好的相关性。

在上述时间依赖性给药系统的研究中，值得关注的就是确保包衣材料的相似性。如果包衣材料不相似，则会使包衣层的硬度发生改变，可能导致在水溶性介质中无法渗透，结果使药物的延迟释药时间在药物设定的释放时间之前，发生意想不到的改变[71]。

2.2 酶解型聚合物

药物如果被包埋于某种制剂，如胶囊，经偶氮芳香族交联聚合物包衣，能被结肠偶氮还原酶所裂解，所以其能局部和选择性地定位于结肠。这种利用结肠靶向的生物降解材料进行包衣的方法，可以应用于许多药物，而且药物的释放速率取决于细菌酶的活力，而并非宿主酶的活力。

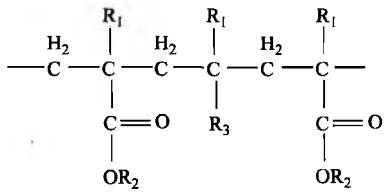
Saffran 及其同事[68]将胰岛素和抗利尿激素装于胶囊中，再包以难渗透的聚合物材料。这种包衣材料由具有偶氮官能团的二苯偶氮乙烯交联剂制备而成，可以抵制胃和小肠内酶对药物的分解。但是由于药物吸收的变异性，也会遇到一些问题。这可能是由于包衣层的亲水性不够，包衣材料的体内、外降解有所差异而造成。实际上，Kimura 等[72]指出，只有亲水能力足够的聚合物才能在合适的时间里降解。然而，如果包衣层太亲水，也可能使药物过早释放。偶氮交联剂之间的间隔长度对药物释放的影响似乎并不显著。

一个普遍的理论认为，偶氮类物质的降解产物一般都是诸如偶氮染料的芳香胺类物质。Ueda 和他的同事们发现，聚氨酯片段中的偶氮键被还原为次联氨基中间体[73]，把其与人体粪便一起培养，未见相对分子质量减少。因此，人们得出结论认为，药物从具有偶氮聚合物包衣的药丸中释放，可能是由于包衣层结构发生改变和裂解的缘故。其他的研究也认为，聚合物还原为次联氨基中间体或完全裂解成芳香胺类物质，是因为其自身的亲水或疏水性质。

尽管人们知道偶氮类聚合物含有某些致癌物质，但至今仍缺少关于偶氮聚合物有毒的权威性结论的报道。为了避免偶氮类聚合物可能产生的毒性，人们已开始研究其他能在结肠里可生物降解的天然包衣材料。这些可生物降解的天然包衣材料所遇到的普遍问题就是成膜性差，并且在水中的溶解度太大。所以，近来人们努力将这些天然的和其他合成的聚合物混合在一起，制备成复合层包衣，或者将它们衍生化以减小在水中的溶解度。

天然的多聚糖，如果胶、木聚糖和瓜尔胶，在人的胃和小肠里不能被消化吸收，但可以被结肠酶所降解。近来对 5-氨基水杨酸（5-ASA）[74]和吲哚美辛[75]的研究证实，可以使用瓜尔胶作为载体实现这些药物的结肠定向给药。因为瓜尔胶能避免药物在胃和小肠的生理环境中释放。目前，研究较多的多聚糖是果胶、果胶盐、硫酸软骨素、直链淀粉和菊糖。

Veervort 和 Kinget[76]研究证实，将菊糖与丙烯酸树脂混合在包衣中，随着在降解介质中培养时间的延长，其渗透性有所增加（图 5）[1]。当培养 8h、16h、24h 后，通透系数分别增加 6、20 和 70。但是，由于果胶中甲基含量较高，为制备带来一定困难。因此，Wakerly 及其同事[77]便研制了含有乙基纤维素和果胶的包衣层。体外降解试验表明，药物的释放受乙基纤维素和果胶比例的控制。



R_1 = CH_3; H

R_2 = CH_3; $CH_3CH_2^-$

R_3 = COOH (Eudragit® L 和 S)

$COOCH_2CH_2N^+(CH_3)_3Cl^-$ (Eudragit® RL 和 R)

图 5 丙烯酸树脂（Eudragit）的化学结构[69]

Lorenzo-Lamosa 等制备了 Eudragit L-100 和 Eudragit S-100 的丙烯酸微球，内陷有壳聚糖微孔，形成了多储库的给药系统[78]。这种方式是结合了 pH 依赖型释药的结肠酶特异性生物降解的性质，并对制剂中的双氯芬酸钠进行了体外释放研究。Eudragit 包衣可使药物在适宜的 pH 环境下连续释药 8～12h。研究者们建议研制一种复合型的释药机制，包括溶解型 Eudragit 包衣、可吸水膨胀的壳聚糖微球、药物的溶解以及药物通过壳聚糖凝胶孔的进一步扩散（图 6）[78]。

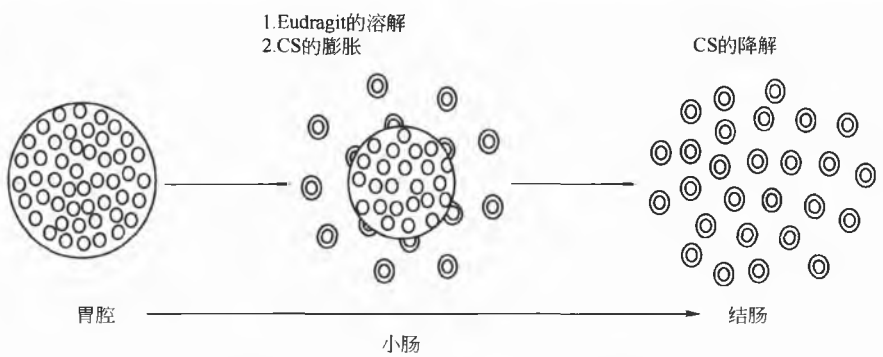


图 6 药物从丙烯酸树脂微囊化的壳聚糖微球中的释放[83]

Y

Tozaki 等[79]近来对 5-氨基水杨酸（5-ASA）的壳聚糖胶囊进行了研究。研究结果显示，这种剂型的结肠药物浓度比混悬剂更高。Ramdas 等[80]利用丙烯酸、海藻酸和壳聚糖的生物黏附性来制备药物，如 5-氟尿嘧啶和胰岛素，这样药物可以避免胃酸环境的影响，在肠道里能维持较长时间的释药[80]。Aiedeh 和 Taha[81]以双氯芬酸钠为模型药物，已经成功运用壳聚糖琥珀酸盐和壳聚糖邻苯二甲酸盐为骨架型基质，实现了口服的结肠定位给药。

适当条件下制备的其他天然多聚糖、直链淀粉，不仅可用于包衣，而且发现能抵制 α-胰腺酶的降解，并且仍可被结肠酶作用[82]。但是对于乙基纤维素结合物，有必要防止药物由于被动扩散而提早释药[83]。5-氨基水杨酸丸剂以直链淀粉-乙基纤维素（1∶4）混合包衣，体外试验发现，药物在结肠内容物中 4h 后就可完全释放。相比较而言，在模拟的胃和小肠内容物中，药物释放 20%需要的时间则超过 24h。

天然的多聚半乳糖醛酸酶混悬液在聚甲基丙烯酸酯溶液中作为可生物降解的包衣材料，能延迟药物在小肠里的释放，同时又能被结肠酶降解[83]。这就是研究多聚半乳糖醛酸酶-瓜尔胶作为结肠给药载体的基础。地塞米松骨架片就是利用瓜尔胶制备包衣层来实现结肠定位给药的[84]。利用 γ-闪烁示踪仪，使用 Tc -99m-DTPA 对健康志愿者进行跟踪[85]，发现瓜尔胶基质片完好无损地进入结肠，在结肠酶的降解作用下释放出了大量的示踪物。

Bauer 和 Kusselhut 的研究结论显示，月桂醇和右旋糖酐能成膜，并能选择在结肠处释放出片中的茶碱[86]。Hirsch 及其同事研究将茶碱片包以 4%十二烷基右旋糖酐[87]。体外模拟试验表明，片剂在 pH 5.5 的缓冲液中的溶出持续了 4h。在开始的 4h 溶出呈线性，释放速率与包衣材料的酯键数目成反比。在人工盲肠液中加入葡糖苷酶后，包衣层裂解，2h 内药物完全释放。利用合适的反应物经过化学衍生可得到天然的可降解聚合物，这项研究与结肠定位给药系统的研究一样非常有前途，值得关注。

2.3 易酶解的基质和水凝胶

在这样的处方设计中，活性物质、可降解聚合物和其他添加物被制成均一或多颗粒的固体剂型，药物则被包埋在聚合物骨架基质的内核中。以吲哚美辛为模型药物，制备交联程度不同的硫酸软骨素的生物降解型骨架片。试验发现，交联程度与药物释放量有着直接的关系[88]。

Rubinstein 和 Rudai[89]发现，以果胶为基础经高压形成的吲哚美辛骨架片或包衣片，在果胶降解之前，都能使药物在人工胃肠液中保存完好。体外试验显示，当以含甲基的果胶作为包衣时，能够保护制剂在口-肠的通道中不受破坏，而在结肠里又能被结肠酶降解。甲基含量越高，越不易受结肠酶的降解，但钙的存在容易使果胶酶解[90]。

上述的均一性给药方法存在问题，药物容易堵塞在回盲连接部位，导致药物在进入结肠前就被损失掉。为了解决这个问题，于是设计了多颗粒制剂，可以帮助药物自由通过回盲连接处。以此为基础的多颗粒给药系统正在进行试验[91]。药丸用壳聚糖和酰胺化果胶包衣，与未包衣的药丸相比，前者能显著降低磺胺甲噁唑和吲哚美辛在人工胃肠液中的释放。

Macleod 等[92]将胶体、壳聚糖、羟乙基甲基纤维素以合适的配比包衣来实现结肠给药[92]。所有的试验结果表明，药片能完好无损地通过胃和小肠，当片子进入结肠，在结肠酶的降解作用下便开始崩解。

Kopecek 及其同事研制了一种新型水凝胶胶囊（图 7）[93]，它以丙烯酸为基础，用 4，40-二（甲基丙烯酰胺）偶氮苯[94]交联的 *N*，*N*-二甲基丙烯酰胺和 *N*-特丁基丙烯酰胺的水凝胶。这些水凝胶在胃里不能吸水膨胀，但是经过小肠，由于 pH 增高，水凝胶的膨胀作用增加。在结肠里膨胀到极限，这时连接键容易被结肠酶分解，其结果是水凝胶分裂，药物得到释放。试验发现，降解速度与水凝胶的膨胀平衡程度直接有关，而与连接密度成反比。水凝胶由聚合物制备，具有相同的交联聚合物成分和交联结构，会产生大量类似降解的反应过程。相比之下，由聚合物母体交联或二聚反应制备的水凝胶，随着交联度的增加，在低交联和大量类似的降解过程中会产生聚合物的表面侵蚀[95]。对水溶性偶氮聚合物和水凝胶中存在的偶氮官能团的降解速度进行比较研究发现，水凝胶中偶氮官能团的降解比偶氮染料要慢 125 倍。

使用二异氰酸酯作为交联剂的葡聚糖水凝胶仅能在结肠末端释放。结肠始端比末端更益于药物的吸收[96]。pH 敏感型的葡聚糖水凝胶由葡聚糖（T-70）和 4-硝基苯基氯甲酸酯制备而成，然后将活化的葡聚糖与 4-氨基丁酸结合，1，10-二氨基癸烷作为交联剂[97]。在缓冲溶液中加入了葡聚糖酶，能使牛的免疫血清蛋白释放速率大大提高。然而，在 Hirsh 等[98]的研究中发现，十二烷基葡聚糖和半乳甘露聚糖作为可生物降解的包衣材料，酶解后的零级释放并没有实现。此外，由 2-羟乙基异丁烯酯和 4-异丁烯酰基-氧偶氮苯共聚而得到的水凝胶，在被结肠酶酶解后可释放出苯胺[99]。还有研究报道说，由硼砂[100]交联的瓜尔胶具有生物降解功能，这种制剂可以使药物在结肠近端得到释放。

天然水凝胶比偶氮聚合物的毒性更小因而更受人们欢迎。但是，如果水凝胶没有得到合适的化学衍生，则会导致水凝胶结构变化，而新结构可能不会被结肠酶所辨别和降解，因而药物在结肠里也不容易得到降解。如果降解太快导致药物释放速度太快，则会引起聚合物的表面侵蚀。水凝胶和骨架基质一个主要的缺点就是药物的载药量有限。因此，如果较大剂量的药物需要进行结肠给药，它们不是最佳的药物载体。

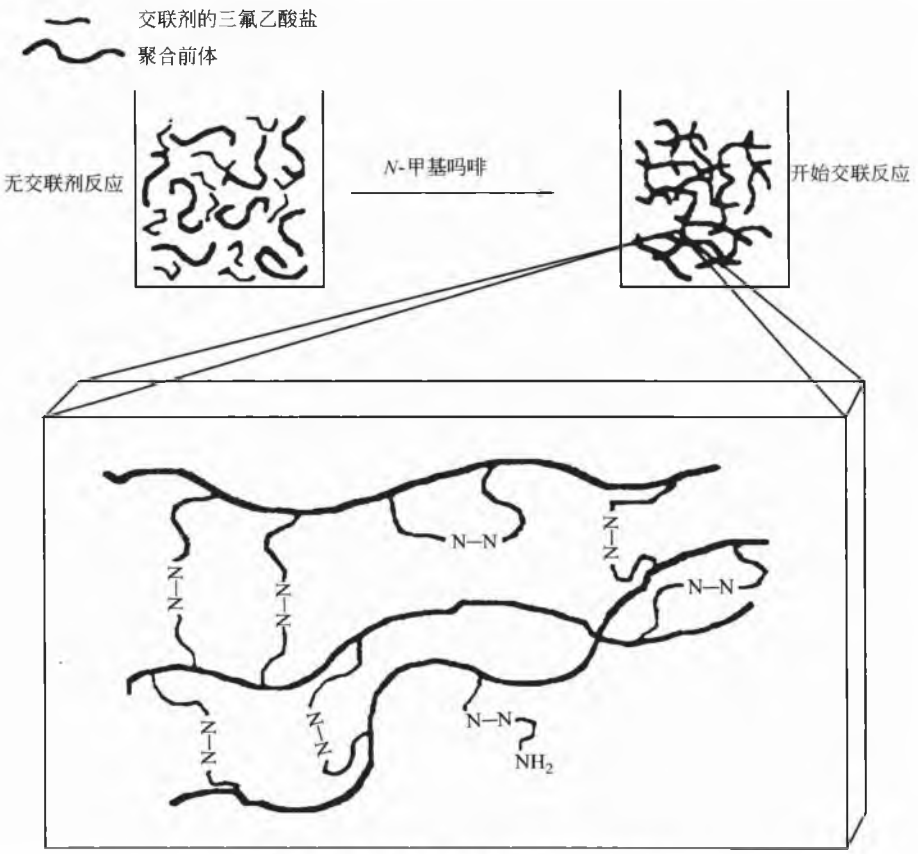


图 7　聚合物母体交联的合成水凝胶示意图[93]

结论

在过去的 20 年里，人们对于结肠靶向给药进行了大量的研究。这是一个在胃肠道中很值得关注的区域，因为它不具有像胃和小肠那样会降解药物的恶劣环境。结肠病变的局部治疗较为困难，以及由于活性成分被消化酶或黏膜酵素酶所降解而使药物活力降低，这些情况都可以通过结肠给药的方式得到改善。但是，由于胃肠道中 pH 的个体差异太大，pH 依赖型的聚合物不很适宜研制成结肠靶向给药。因此，单纯依靠结肠的常规条件（如结肠酶降解依赖型给药）来实现结肠靶向给药还是有希望的。然而，由于偶氮聚合物有毒性，在设计此类给药方式时应该加以考虑。另外，由于天然聚合物不具备充分的成膜能力，而且经化学衍生后它不能在胃里降解，因此也有其自身的缺陷。比较这些不同的结肠给药方式，一个主要问题在于，这些有关结肠酶的降解研究是在不同试验条件下进行的，所以可比性较差。尽管动物试验结果显示很好，但没有一个聚合物的给药得到了临床的证实。因此，人们还要做大量的工作来较好地解决结肠给药系统中所存在的诸多问题。

参 考 文 献

1. Kinget, R.; Kalala, W.; Vervoort, L.; van der Mooter, G. Colonic Drug Targeting. J. Drug Targeting 1998, 6, 129—149.
2. Lee, V. H. L. Changing Needs in Drug Delivery in the Era of Peptide and Protein Drugs. Peptide and Protein Drug Delivery; Lee, V. H. L., Ed.; Mercel Dekker, Inc.: New York, 1991; 1—56.
3. Mrsny, R. J. The Colon As a Site for Drug Delivery. J. Controlled Release 1992, 22, 15—34.
4. Hovgard, L.; Bronsted, H. Current Applications of Polysaccharides in Colon Targeting. Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. 1996, 13, 185—223.
5. Binder, H. J.; Foster, E. S.; Budinger, M. E.; Hayslett, J. E. Mechanism of Electroneutral Sodium Chloride Absorption in Distal Colon of the Rat. Gastroenterology 1987, 93, 449—455.
6. Thomas, P.; Richards, D.; Richards, A.; Rojers, L.; Evans, B. K.; Drew, M. J.; Rhodes, J. Absorption of Delayed-Release Prednisolone in Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. Int. J. Pharm. 1985, 37, 757.
7. Evans, D. F.; Pye, G.; Bramley, R.; Clark, A. G.; Dyson, T. J.; Hardcastle, J. D. Measurement of Gastrointestinal PH Profiles in Normal Ambulant Human Subjects. Gut. 1988, 29, 1035—1041.

Y

8. Ashford, M.; Fell, J. T.; Attwood, D.; Woodhead, P. J. An in Vitro Investigation into the Suitability of pH Dependent Polymers for Colonic Targeting. Int. J. Pharm. 1993, 91, 241—245.
9. Davis, S. S.; Hardy, J. G.; Fara, J. W. Transit of Pharmaceutical Dosage Forms Through the Small Intestine. Gut. 1986, 27, 886—892.
10. Read, N. W.; Miles, C. A.; Fischer, D.; Holgate, A. M.; Kime, N. D.; Mitchell, M. A.; Reeve, A. M.; Boche, T. B.; Walker, M. Transit of a Meal Through the Stomach, Small Intestine, and Colon in Normal Subjects and its Role in the Pathogenesis of Diarrhea. Gastroenterology 1980, 79, 1276—1282.
11. Adkin, D. A.; Davis, S. S.; Sparow, R. A.; Wilding, I. R. Colonic Transit of Different Sized Tablets in Healthy Subjects. J. Controlled Release 1993, 23, 147—153.
12. Haeberlin, B.; Friend, D. R. Anatomy and Physiology of the Gastrointestinal Tract. Oral Colon-Specific Drug Delivery; Friend, D. R., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 1992; 1—43.
13. Hardy, J. G.; Davis, S. S.; Khosla, R.; Robertson, C. S. Gastrointestinal Transit of Small Tablets in Patients with Ulcerative Colitis. Int. J. Pharm. 1988, 48, 79—82.
14. Rangachari, P. K. Six-Pack Balancing Act: A Conceptual Model for the Intestinal Lining. Can. J. Gastroenterol. 1990, 4, 201—208.
15. Nubuchi, J.-J.; Aramaki, Y.; Tsuchiya, S. Binding of Antibiotics to Rat Intestinal Mucin. Int. J. Pharm. 1986, 30, 181—188.
16. Black, J. W.; Bradbury, J. E. Whyllie Stimulation of Colonic Mucus Output in the Rat. Br. J. Pharmacol. 1979, 66, 456P—457P.
17. Schipper, N. G.; Varum, K. M.; Stenberg, P.; Ocklind, G.; Lennernas, H.; Artursson, P. Chitosans As Absorption Enhancers of Poorly Absorbable Drugs. 3. Influence of Mucus on Absorption Enhancement. Eur. J. Pharm. Sci. 1999, 8, 335—343.
18. Powell, D. W. Barrier Function of Epithelia. Am. J. Physiol. 1981, 241, G275—G288.
19. Nellans, H. N. Paracellular Intestinal Transport: Modulation of Absorption. Adv. Drug Delivery Rev. 1991, 7, 339—364.
20. Luciano, L.; Real, E.; Rechkemmer, G.; von Engelhardt, W. Structure of the Zonula Occludentes and the Permeability of the Epithelium to Short-Chain Fatty Acids in the Proximal and the Distal Colon of Guinea Pig. J. Membr. Biol. 1984, 82, 145—156.
21. Berne, R. M. Physiology; Levy, M. N., Ed.; C. V. Mosby Inc.: Toronto, 1988; 742—743.
22. Jackson, M. J. Drug Transport Across Gastrointestinal Epithelia. Physiology of the Gastrointestinal Tract; Johnson, L. R., Ed.; Raven Press: New York, 1987; 1597—1621.
23. Burton, P. S.; Conradi, R. A.; Hilgers, A. R. Transcellular Mechanism of Peptide and Protein Absorption: Passive Aspects. Adv. Drug Delivery Rev. 1991, 7, 365—386.
24. Armstrong, R. N. Enzyme-Catalyzed Detoxication Reactions: Mechanisms and Stereochemistry. CRC Crit. Rev. Biochem. 1987, 22, 39—88.
25. Pacifici, G. M.; Franchi, M.; Bencini, C.; Repetti, F.; Di Lascio, N.; Muraro, G. B. Tissue Distribution of Drug-Metabolizing Enzymes in Humans. Xenobiotica 1988, 18, 849—856.
26. Ritschel, W. A. Targeting in the Gastrointestinal Tract: New Approaches. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1991, 13, 313—336.
27. Haeberlin, B.; Friend, D. R. Anatomy and Physiology of the Gastrointestinal Tract. Oral Colon-Specific Drug Delivery; Friend, D. R., Ed.; CRC Press: Boca Raton, 1992; 1—43.
28. Hill, M. J.; Drasar, B. S. The Normal Colonic Bacterial Flora. Gut. 1975, 16, 318—323.
29. Moore, W. E. C.; Holdeman, L. V. Discussion of Current Bacteriologic Investigations of the Relationship Between Intestinal Flora, Diet and Colon Cancer. Cancer Res. 1975, 35, 3418—3420.
30. Lindsey, J. T.; Smith, J. W.; McCluggage, S. G. J.; Nicholas, R. L. Effects of Commonly Used Bowel Preparations on the Large Bowel Mucosa-Associated and Luminal Microflora in the Rat Model. Dis. Col. Rectum. 1990, 33, 554—560.
31. Macfarlane, G. T.; Hay, S.; Gibson, G. R. Influence of Mucin on Glycosidase, Protease and Arylamidase Activities of Human Gut Bacteria Grown in a 3-Stage Continuous Culture System. J. Appl. Bacteriol. 1989, 66, 407—417.
32. Macfarlane, G. T.; Gibson, G. R.; Beatty, J. H.; Cummings, J. H. Estimation of Short Chain Fatty Acid Production from Protein by Human Intestinal Bacteria Based on Branched-Chain Fatty Acid Measurements. FEMS Microbiol. Ecol. 1992, 101, 81—88.
33. Longer, M. A.; Woodley, J. F.; Duncan, R. Comparison of the Activities of Rat Small Intestine and Colon Brush Border Membrane Peptidases. Proc. Int. Symp. Controlled Release Bioact. Matter. 1989, 16, 225—226.
34. Digenis, G. A.; Sandefer, E. Gamma Scintigraphy and Neutron Activation Techniques in the In Vivo Assessment of Orally Administered Dosage Forms. Crit. Rev.

Ther. Drug Carrier Syst. 1991, 7, 309—345.
35. Kimura, R. E.; Dy, S. A.; Uhing, M. R.; Beno, D. W.; Jiyamapa, V. A.; Lloyd-Still, J. D. The Effects of High Dose Ibuprofen and Pancreatic Enzymes on the Intestine of the Rat. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1999, 29, 178—183.
36. Tomita, M.; Shiga, M.; Hayashi, M.; Awazu, S. Enhancement of Colonic Drug Absorption by the Transcellular Permeation Route. Pharm. Res. 1988, 5, 431—435.
37. Muranishi, S. Absorption Enhancers. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1990, 7, 1—33.
38. Nishihata, T.; Kamikawa, K.; Takahata, H.; Kamada, A. Enhanced Intestinal Absorption of Amino Acids and Amino Acid-Like Drug by Possible Formulation of Anamine in Administered Solution by the Presence of Ethylacetoacetate. J. Pharmacobiodyn. 1984, 7, 143—150.
39. Cheek, J. M.; Kim, K. -J.; Crandall, E. D. NO_2 Decreases Paracellular Resistance to Ion and Solute Flow in Alveolar Epithelial Monolayers. Exp. Lung Res. 1990, 16, 561—575.
40. Rangachari, P. K.; Prior, T.; McWade, D. Epithelial and Mucosal Preparations from Canine Colon: Responses to Substance. P. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1990, 254, 1076—1083.
41. Tomita, M.; Hayashi, M.; Toshiharu, H.; Awazu, S. Enhancement of Colonic Drug Absorption by the Transcellular Permeation Route. Pharm. Res. 1988, 5, 786—789.
42. Shimazaki, T.; Tomita, M.; Sadahiro, S.; Hayashi, M.; Awazu, S. Absorption-Enhancing Effects of Sodium Caprate and Palmitoyl Carnitine in Rat and Human Colons. Dig. Dis. Sci. 1988, 43, 641—645.
43. Lee, V. H. L.; Dodh-Kashi, S.; Grass, G. M.; Bubas, W. Oral Route of Peptide and Protein Drug Delivery. Peptide and Protein Drug Delivery; Lee, V. H. L., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991; 691—738.
44. Muranishi, S.; Takada, K. Biopharmaceutical Aspects on Enhanced Transmembrane Delivery of Peptides and Proteins. Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Delivery, and Targeting; Marshak, D., Liu, D., Eds.; Cold Spring Harbor Laboratory: New York, 1989; 47—50.
45. Tsuji, S.; Kawano, S.; Tsuji, M.; Masuda, E.; Gunawan, E. S.; Hori, M. Mucosal Microcirculation and Angiogenesis in Gastrointestinal Tract. Jap. J. Clin. Med. 1998, 56 (9), 2247—2252.
46. Khan, A.; Piris, J.; Truelove, S. C. An Experiment to Determine the Active Therapeutic Moiety of Sulphasalazine. Lancet 1977, 2, 892—895.
47. Van Hozegard, R. A. Pharmacokinetics of Olsalazine and Its Metabolites. Scan. J. Gastroenterol. 1998, 23 (Suppl. 148), 17—20.
48. Chan, R. P.; Pope, D. J.; Gilbert, A. P.; Sarca, P. J.; Baron, J. H.; Lennard-Jones, J. E. Studies of Two Novel Sulphasalazine Analogs, Ipsalazide and Balsazide. Dig. Dis. Sci. 1983, 28, 609—615.
49. Brown, J. P.; McGarraugh, G. V.; Parkinson, T. M.; Wingerd, R. E.; Oderndonck, A. B. A Polymeric Drug for Treatment of Inflammatory Bowel Disease. J. Med. Chem. 1983, 26, 1300—1307.
50. Schacht, E.; Gevaert, A.; Kenway, E. R.; Molly, K.; Verstraete, W.; Adriaensens, P.; Carleer, R.; Gelan, R. Polymers for Colon Specific Drug Delivery. J. Controlled Release 1996, 39, 327—338.
51. Friend, D. R.; Chang, G. W. A Colon Specific Drug Delivery System Based on Drug Glycosides and Glycosidases of Colonic Bacteria. J. Med. Chem. 1984, 27, 261—266.
52. Friend, D. R.; Tozer, T. N. Drug Glycosides in Oral Colon-Specific Drug Delivery. J. Controlled Release 1992, 19, 109—120.
53. Friend, D. R. Glycoside Prodrugs: Novel Pharmacotherapy for Colonic Diseases. S. T. P. Pharma. Sci. 1995, 5, 70—76.
54. Harboe, E.; Larsen, C.; Johansen, M.; Olesen, H. P. Macromolecular Prodrugs XV. Colon Targeted Delivery Bioavailability of Naproxen from Orally Administered Dextran-Naproxen Prodrugs Varying in Molecular Size in the Pig. Pharm. Res. 1989, 6, 919—923.
55. Macleod, A. D.; Tolentino, L.; Tozer, T. N. Glucocorticoid-Dextran Conjugates As Potential Prodrugs for Colon-Specific Delivery: Steady-State Pharmacokinetics in the Rat. Biopharm. Drug Disp. 1994, 15, 151—161.
56. Hirayama, F.; Minami, K.; Uekama, K. In-Vitro Evaluation of Biphenylyl Acetic Acid-b-Cyclodextrin Conjugates As Colon-Targeting Prodrugs: Drug Release Behaviour in Rat Biological Media. J. Pharm. Pharmacol. 1996, 48, 27—31.
57. Minami, K.; Hirayama, F.; Uekama, K. Colon-Specific Drug Delivery Based on a Cyclodextrin Prodrug: Release Behavior of Biphenylylacetic Acid from its Cyclodextrin Conjugates in Rat Intestinal Tracts After Oral Administration. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 715—720.
58. Wilson, C. G.; Washington, N. Physiological Pharmaceutics, Biological Barriers to Drug Absorption; Ellis Harwood, Ltd: Chichester UK, 1989.
59. Villar-Lopez, M. E.; Nieto-Reyes, L.; Aguiano-Igea, S.; Otero-Espinar, F. J.; Blanco-Mendez, J. Formula-

Y

tion of Triamcinolone Acetonide Pellets Suitable for Coating and Colon Targeting. Int. J. Pharm. 1999, 179, 229—235.

60. Ashford, M.; Fell, J. T.; Attwood, D.; Sharma, H.; Woodhead, P. J. An in Vivo Investigation into the Suitability of pH Dependent Polymers for Colonic Targeting. Int. J. Pharm. 1993, 95, 193—199.
61. Khan, M. Z.; Prebeg, Z.; Kurjakovic, N. A PH Dependent Colon Targeted Oral Drug Delivery System Using Methacrylic Acid Copolymers. I. Manipulation of Drug Release Using Eudragit L 100-55 and Eudragit S100 Combinations. J. Controlled Release 1999, 58, 215—222.
62. Peeters, R. Kinget, R. Film-Forming Polymers for Colonic Drug Delivery. Synthesis and Physical and Chemical Properties of Methyl Derivatives of Eudrajit S. Int. J. Pharm. 1993, 94, 125—134.
63. Peeters, R.; Studie Over De Ontwikkeling Van Een Colon-Specifieke Artsenijvorm; Lueven, K. U., Ed.; Doctoral Thesis University of Leuven: Leuven Belgium.
64. Gazzaniga, A.; Bussetti, C.; Moro, L.; Sangali, M. E.; Giordano, F. Time Dependent Oral Delivery Systems for Colon Targeting. S. T. P. Pharma. Sci. 1995, 5, 70—76.
65. Pozzi, F.; Furlani, P.; Gazzaniga, A.; Davis, S. S.; Wilding, I. R. The Time-Clock System: A New Oral Dosage Form for Fast and Complete Release of Drug After a Predetermined Lag-Time. J. Controlled Release 1994, 31, 99—108.
66. Ueda, S.; Ibuki, R.; Kawamuza, A.; Murata, S.; Takahashi, T.; Kimuza, S.; Hata, T. Development of a Novel Drug Delivery System, Time-Controlled-Explosion System (TES) . J. Drug Targeting 1994, 2, 133—140.
67. Vandelli, M. A.; Leo, E.; Forni, F.; Bernabei, M. T. In Vitro Evaluation of a Potential Colonic Delivery System that Releases Drug after a Controllable Lag-Time. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1996, 43, 148—151.
68. Saffran, M.; Kumar, G. S.; Neckers, D. C.; Pena, J.; Jones, R. H.; Field, B. Biodegradable Azopolymer Coating for Oral Delivery of Peptide Drugs. Biochem. Soc. Trans. 1990, 18, 752—754.
69. Ishibashi, T.; Pitcairn, G. R.; Yoshino, H.; Mizobe, M.; Wilding, I. R. Scintigraphic Evaluation of a New Capsuletype Colon Specific Drug Delivery System in Healthy Volunteers. J. Pharm. Sci. 1988, 87, 531—535.
70. Yoshikawa, Y.; Hu, Z.; Kimura, G.; Muranishi, M.; Yoshikawa, H.; Takada, K. A Dissolution Test for a Pressure-Controlled Colon Delivery Capsule: Rotating Beads Method. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51, 979—989.
71. Van den Mooter, G.; Samyn, C.; Kinget, R. In Vivo Evaluation of a Colon-Specific Drug Delivery System: An Absorption Study of Theophylline from Capsules Coated With Azo Polymers in Rats. Pharm. Res. 1995, 12, 244—247.
72. Kimura, Y.; Makita, Y.; Kumagai, T.; Yamane, H.; Kitao, T.; Sasatani, H.; Kim, S. I. Degradation of Azo Containing Polyurethane by the Action of Intestinal Microflora. Polymer 1992, 33, 5294—5299.
73. Ueda, T.; Yamaoki, T.; Miyamoto, M.; Kimura, Y.; Sasatani, H.; Kim, S. I. Bacterial Reduction of Azo Compounds as a Model Reaction for the Degradation of Azo-Containing Polyurethane by the Action of Intestinal Flora. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1996, 69, 1139—1142.
74. Krishnaiah, Y. S.; Satyanarayana, S.; Prasad, Y. V. Studies of Guar Gum Compression-Coated 5-Aminosalicylic Acid Tablets for Colon-Specific Drug Delivery. Drug Dev. Ind. Pharm. 1999, 25, 651—657.
75. Prasad, Y. V.; Krishnaiah, Y. S.; Satyanarayana, S. In Vitro Evaluation of Guar Gum as a Carrier for Colon-Specific Drug Delivery. J. Controlled Release 1998, 51, 281—287.
76. Veervort, L.; Kinget, R. In Vitro Degradation by Colonic Bacteria of Insulin-HP Incorporated in Eudragit RS Films. Int. J. Pharm. 1996, 129, 185—190.
77. Wakerly, Z.; Fell, J. T.; Attwood, D.; Parkins, D. Pectin/Ethyl Cellulose Film Coating Formulations for Colonic Drug Delivery. Pharm. Res. 1996, 13, 1210—1212.
78. Lorenzo-Lamosa, M. L.; Remunan-Lopez, C.; Vila-Jato, J. L.; Alonso, M. J. Design of Microencapsulated Chitosan Microspheres for Colonic Drug Delivery. J. Controlled Release 1998, 52, 109—118.
79. Tozaki, H.; Fujita, T.; Odoriba, T.; Terabe, A.; Okabe, S.; Muranishi, S.; Yamamoto, A. Validation of a Pharmacokinetic Model of Colon-Specific Drug Delivery and the Therapeutic Effects of Chitosan Capsules Containing 5-Aminosalicylic Acid on 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulphonic Acid-Induced Colitis in Rats. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51, 1107—1112.
80. Ramdas, M.; Dileep, K. J.; Anitha, Y.; Paul, W.; Sharma, C. P. Alginate Encapsulated Bioadhesion Chitosan Microspheres for Intestinal Drug Delivery. J. Biomater. Appl. 1999, 13, 290—296.
81. Aiedeh, K.; Taha, M. O. Synthesis of Chitosan Succinate and Chitosan Phthalate and Their Evaluation as Suggested Matrices in Orally Administered, Colon-Specific Drug Delivery Systems. Arch. Pharm (Weinheim) 1999, 332, 103—107.
82. Alwood, M. C.; Archer, D. B.; Ring, S. G. Delayed Release Formulations. Europe Application Patent

0343993A1, 1989.

83. Milojevic, S.; Newton, M.; Cummings, J. M.; Gibson, G. R.; Botham, R. L.; Ring, S. G.; Stockham, M.; Alwood, M. C. Amylose as a Coating for Drug Delivery to the Colon: Preparation and In Vitro Evaluation Using 5-Aminosalicylic Acid Pellets. J. Controlled Release 1996, 38, 75—84.
84. Kenyon, C. J.; Nardi, R. V.; Wong, D.; Hooper, G.; Wilding, I. R.; Friend, D. R. Colonic Delivery of Dexamethasone: A Pharmacoscintigraphic Evaluation. Aliment. Pharmacol. Ther. 1997, 11, 205—213.
85. Krishniah, Y. S. R.; Satyanaranaya, S.; Rama Prasad, Y. V.; Narsimha Rao, S. Gamma Scintigraphic Studies on Guar Gum Matrix Tablets for Colonic Drug Delivery in Healthy Human Volunteers. J. Controlled Release 1998, 55, 245—252.
86. Bauer, K. H.; Kusselhut, J. F. Novel Pharmaceutical Excipients for Colon Targeting. S. T. P. Pharma. Sci. 1995, 5, 54—59.
87. Hirsch, S.; Binder, V.; Kolter, K.; Kesselhut, J. F.; Bauer, K. H. Lauroyldextran as a Coating Material for Site-Specific Drug Delivery to the Colon: In Vitro Dissolution of Coated Tablets. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1997, 24, 379—380.
88. Rubinstein, A.; Nakar, D.; Sintov, A. Chondroitin Sulfate: A Potential Biodegradable Carrier for Colon-Specific Drug Delivery. Int. J. Pharm. 1992, 84, 141—150.
89. Rubinstein, A.; Rudai, R. In Vitro and In Vivo Analysis of Colon Specificity of Calcium Pectinate Formulations. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1995, 41, 291—295.
90. Ashford, M.; Fell, J. T.; Attwood, D.; Sharma, H.; Woodhead, P. J. Studies on Pectin Formulations for Colonic Drug Delivery. J. Controlled Release 1994, 30, 225—232.
91. Munjeri, O.; Collet, J. H.; Fell, J. T. Hydrogel Beads Based on Amidated Pectins for Colon-Specific Drug Delivery: Role of Chitosan in Modifying Drug Release. J. Controlled Release 1997, 46, 273—278.
92. Macleod, G. S.; Fell, J. T.; Collett, J. H.; Sharma, H. L.; Smith, A. M. Selective Drug Delivery to the Colon Using Pectin: Chitosan: Hydroxypropyl Methylcellulose Film Coated Tablets. Int. J. Pharm. 1999, 187, 251—257.
93. Kopecek, J.; Kopeckova, P.; Bronstead, H.; Rathi, R.; Rihova, B.; Yeh, P. -Y.; Ikesue, K. Polymes for Colo-Specific Drug Delivery. J. Controlled Release 1992, 19, 121—130.
94. Brondsted, H.; Kopecek, J. Hydrogels for Site-Specific Oral Drug Delivery: Synthesis and Characterization. Biomaterials 1991, 12, 584—592.
95. Ghandehari, H.; Kopeckova, P.; Kopecek, J. In Vitro Biodegradation of PH-Sensitive Hydrogels Containing Aromatic Azo Bonds. Biomaterials 1997, 18, 861—872.
96. Simonsen, L.; Hovgaard, L.; Mortensen, P. B.; Brondsted, H. Dextran Hydrogels for Colon-Specific Drug Delivery. Degradation in Human Intestinal Incubation Models. Eur. J. Pharm. Sci. 1995, 3, 329—337.
97. Chiu, H. C.; Hsiue, G. H.; Lee, Y. P.; Huang, L. W. Synthesis and Characterization of pH-Sensitive Dextran Hydrogels As a Potential Colon-Specific Drug Delivery System. J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 1999, 10, 591—608.
98. Hirsch, S.; Binder, V.; Schehlmann, V.; Kolter, K.; Bauer, K. H. Lauroyldextran and Crosslinked Galactomannan as Coating Materials for Site-Specific Drug Delivery to the Colon. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1999, 47, 61—71.
99. Shanta, K. L.; Ravishandran, P.; Rao, K. P. Azo Polymeric Hydrogels for Colon Targeted Drug Delivery. Biomaterials 1995, 16, 1313—1318.
100. Rubinstein, A.; Gliko-Kabir, I. Synthesis and Swelling-Dependent Enzymatic Degradation of Borax-Modified Guar Gum for Colonic Delivery Purposes. S. T. P. Pharma. Sci. 1995, 5, 41—46.

（罗华菲 译）

Y

药物输送：口服途径

Brahma N. Singh
Kwon H. Kim
St. John's University, Jamaica, New York, U.S.A.

概述

口服药物输送是全身作用的治疗药物最理想和首选的给药途径。此外，由于这种给药方式临床患者较易接受，服用方便，而且制剂生产成本低，所以在新药和制剂的研发中是首先被考虑的途径。对于许多药物来说，常规的速释制剂能在患者可以接受的安全范围内维持药动学和药效学所需的平衡，因而能提供有效的临床治疗。

然而，有时由于一些治疗药物在胃肠道难以吸收，对多种酶尤其是对蛋白水解酶不稳定，如一些多肽和蛋白质药物，因此开发口服制剂的可能性受到限制。口服给药的整个过程常常受到药物本身的理化特性和（或）胃肠道条件变化等一些生理和制剂因素的影响，pH、食物的存在、排空时间、P-糖蛋白（P-gp）和CYP3A的表达，以及消化道内酶的活性等。控制好这些影响因素是改善口服给药的一个重要手段，这就需要对药物的物理化学原理、胃肠生理学和生物化学性质、聚合物学、药动学和药效学等学科的知识有透彻的理解并进行合理的知识整合。在过去的30多年里，这一领域针对生物学和技术方面的问题投入了大量的精力进行研究，并且为现有的和新型的治疗药物实现更有效的缓控释口服给药开辟了新的途径，这些治疗药物也包括生物技术领域中出现的多肽和蛋白质药物。

此外，在治疗某些疾病时，如胃食管反流症、胃十二指肠溃疡、肠炎和胃癌、结肠癌等，口服途径能够提供一个有效的方法帮助药物实现达胃肠道的靶向定位[1]。口服药物传输系统可被分为3类：速释制剂（IR）、控释制剂（CR）和靶向释放制剂。本章介绍了口服药物的最新技术进展，以及影响口服给药的各种物理化学和生物屏障，并就未来如何改善口服给药提供了一些见解。

胃肠道的解剖学和生理学特征

1. 药物吸收的机制和通路

口服药物主要在小肠（十二指肠、空肠和回肠）和大肠（结肠）吸收；然而，其他部位，如口腔、胃和直肠也是药物吸收的潜在部位。各部位的解剖学和生理学特征在表1中简要概括。

表1 人胃肠道的解剖学和生理学特征

部位	长度/m	吸收表面积/m^2	吸收通路	转运（或停留）固形物的时间/h	pH		酶和其他	微生物/（计数/g）
					空腹	进食		
胃	0.2	0.1	被动转运，对流转运，主动转运	1～3	1.5～3	2～5	胃蛋白酶，脂肪酶，高血压蛋白原酶，HCl，组织蛋白酶	10^2
小肠	7	12.0		3～5				
十二指肠	0.3	0.1	被动转运，对流转运，主动转运，易化转运，离子对转运和胞饮		5.5	5.0	胆酸，胰岛蛋白酶，α-胰凝乳蛋白酶及其他肽酶、淀粉酶，麦芽糖酶，蛋白酶，脂肪酶，核酸酶	10^2
空肠	3.0	60	被动转运，对流转运，主动转运，易化转运，离子对转运和胞饮		6.1	没改变	肠肽酶，淀粉酶，麦芽糖酶，乳糖分解酵素，蔗糖酶，肽酶，脂肪酶	10^5
回肠	4.0	60	被动转运，对流转运，主动转运，易化转运，离子对转运和胞饮		7～8	没改变	肠激酶及其他肽酶，脂肪酶，核酸酶，核苷酸酶	10^7
大肠	1.5	0.3		4～16		没改变		10^{11}

续表

部位	长度/m	吸收表面积/m^2	吸收通路	转运（或停留）固形物的时间/h	pH 空腹	pH 进食	酶和其他	微生物/（计数/g）
盲肠	0.06～0.07	0.05	被动转运，对流转运，主动转运和胞饮		5.7			
结肠	1.35	0.25	被动转运，对流转运和胞饮		8.0		还原酶，酯酶，葡糖苷酶，酰胺酶，硫酸酯酶	10^{11}
直肠	0.12				7.0			

药物一旦到达肠上皮细胞表面，就可以通过以下几种机制中的一种或几种方式被吸收。这几种机制分别是：被动跨细胞吸收、被动细胞间吸收及载体或受体介导的转运吸收。细胞间转运包括药物分子通过上皮细胞紧密连接部位的水孔道，这也是极性亲水性药物最有可能的通路，因为它们在细胞膜上的分配性较差。在人体小肠中，这些充满水的小孔的孔径在空肠处为 7～9 Å，在回肠处为 3～4 Å[2]，在结肠处估计为 8～9 Å，这是从大鼠结肠中获得的数据[3]。尽管如此，由于紧密连接区面积仅占肠道（绒毛）总吸收表面积的大约 0.01%，所以这种细胞间转运的程度有限[4]。跨细胞吸收包括药物经过肠黏膜上皮细胞（胞饮）的转运，这种方式需要药物在肠腔顶膜和基底膜均有分配。显然，这一通路主要局限于相对分子质量较小的亲脂性药物的转运。另外，人体内研究显示，药物吸收的跨细胞途径在结肠段显著减少（小肠＞升结肠＞横结肠），这一结果为延迟释药制剂或缓释制剂的研制提供了可能[5]，而细胞间途径却没有这样的梯度变化出现。

载体介导的转运包括药物和专一性转运器或载体的相互作用，药物以这种方式通过细胞膜或整个细胞从而进行转运，然后从肠黏膜上皮细胞基底膜表面释放进入血液循环[6]。这一过程是可饱和的，用于亲水小分子的转运[7]。以此机制转运的药物包括 β-内酰胺抗生素、头孢菌素和血管紧张素转化酶抑制剂[7]。

受体介导的转运包括对一个外源性物质进行内源化，这一外源性物质可能会成为一个表面结合的受体的配体或与一个表面固定配体连接的受体[8]。在这一过程中，细胞的一小部分向内收缩，形成一个小囊。这一过程通常叫做细胞内吞作用，包括噬菌作用、胞饮作用、受体介导的内吞作用（内涵蛋白介导型）和液饮（不依赖内涵蛋白介导）[9]。

当一个药物经胃肠道吸收后，可以经过门静脉血和肠淋巴这两个独立的、功能截然不同的吸收通路进入全身循环。药物通过这两个通路被吸收的相对比例，很大程度上是由药物的物理化学性质和代谢特征以及制剂处方的特性所决定[10]。

由于门静脉转运水溶性和难溶化合物的能力更大，所以成为大多数口服药物的主要通路[10]。在这一过程中，亲水性分子经肝门静脉被输送至肝脏，又通过肝脏动脉的汇总，由全身循环再输送至作用部位；另外，高度亲脂性药物（log P＞5）通过同样的肠上皮屏障被转运到肠淋巴，再被直接输送到腔静脉，因而避免了肝脏的首过代谢[10]。

2. 胃肠运动

在空腹和进食后，都会发生胃肠运动。然而，这两个状态下的运动模式有显著的差别。在空腹（消化间息）状态，一系列的运动模式特征通常表现为消化间息肌电循环或移行性运动综合波（migrating motor complex，MMC），通常每隔 80～120min 发生一次。每个循环周期由四个连贯的相位组成[11,12]。Ⅰ相（基底状态）是一个持续时间为 45～60min 的几乎没有任何收缩的静止状态；Ⅱ相（发作前期）是一个持续时间为 30～45min 的阶段，发生间歇性的、强度和频率逐渐增加的蠕动型收缩；Ⅲ相（发作期）是一个持续时间为 5～15min 的短暂阶段，有大幅度的强蠕动性收缩。这个阶段将未消化的食物由胃内清扫出去，所以Ⅲ相收缩又被称为“管家”（housekeeper）波。

当一个循环周期的Ⅲ相到达末梢回肠的终结处（回盲结合部）时，下一个循环周期的Ⅰ相在胃（最近的）或食道（食道下端括约肌）开始。然而，有时 MMC 可能在十二指肠或空肠产生，有些 MMC 可能没有足够强的动作电位来横贯整个小肠[12]。Ⅳ相在两个连续周期的Ⅲ相和Ⅰ相之间发生，是一个简短的过渡状态（0～5min）。

在进食状态，MMC 的启动被延后。换言之，进食导致胃排空延后。延后的时间长短主要取决于进餐量的大小（轻或重）和组成（脂肪或纤维）。因此，当服药时，药物命运主要受空腹（或进食）状态下的胃肠运动模式的影响。

口服药物传输的问题和屏障

口服给药最大的问题就是生物利用度低且不确定，这主要是由以下一个或几个因素导致的，诸如水溶性小、溶出速率慢、肠通透率低、在胃肠道环境内稳定性差、肝脏首过代谢高和（或）胃肠道转运的变异性大以及 P-糖蛋白介导的外排等。因此，这些因素有时会导致血浆中药物浓度低于治疗水平，引起临床反应无法重复或某些病例治疗失败。事实上，不完全的和易变的口服给药的生物利用度将对“治疗窗”窄的药物产生最严重的影响[13]，如茶碱、卡马西平和奎尼丁等。从经济学的观点来看，低生物利用

度导致口服剂量很大的一部分被浪费，增加了药物治疗的成本，尤其是对于昂贵的药物[14]。因此，在预测每个因素对生物利用度产生的影响时，认真考虑以上问题并选用适当的技术（或动物模型）就显得十分的重要。

1. 影响口服药物分布的物理化学屏障

1.1 水溶性

长期以来人们认为，口服药物能够被胃肠道某个部位吸收的前提是该药物能够溶解于胃肠道消化液中。由于一个药物的溶出速率和最大溶解量取决于药物在介质中的溶解度[15]，药物的水溶性被认为是影响水溶性小的药物生物利用度低的关键因素，进而限制了这类药物的治疗潜力。难溶药物生物利用度低的其他影响因素有剂量比例缺失、食物干扰大、个体内和个体间差异大、胃刺激性及起效慢[16]。这些问题会在研制控释剂型时进一步恶化[17]。不幸的是，许多活性化合物，包括新化合物（NCE）在生理pH范围内水溶性很低，这可能是由于在进行药物设计时，为了保证吸收性好而使它们具有高亲脂性造成的[18]。因此，许多途径可以用于提高药物的水溶性，主要有化学修饰[19]、络合[17,20,21]、微粉化[22]、表面活性剂增溶、固体分散[23,24]以及对给药系统的设计。然而，这些途径都各有实际应用的局限性。例如，成盐不适用于中性化合物，很多情况下也不适用于许多弱酸或弱碱的药物，因为盐在转成相应的自由酸或碱形式时会发生聚集[23]。这一沉淀反应会进而导致溶出速率减慢，并可能导致某些临床治疗的失败，或者由于pH改变引起上腹部不适[24]。有时，肾排泄率也可能增加，尤其是当胺类药物以酸性盐的形式增溶的时候[25]。

同样，由于使用较高的温度（>100℃）或有害的有机溶剂，如氯仿或二氯甲烷等，可能会导致药物或载体的化学分解，或者溶剂残留带来的可能毒性，从而使固体分散制剂的成功上市受到限制。科学家针对这些无法接受的问题探索出了一些新的方法，尤其是共研法，即将一个难溶于水的药物与一个水溶聚合物共研，如聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯醇[26,27]或糖类，如D-甘露醇[28]。这些作者建议，尽管共研混合物的组成与固体分散相似，但体系中的过饱和会由于微粒更小、分散更好，会持续较长的一段时间。

1.2 亲脂性

药物的脂溶性或亲脂性长期以来被认为是药物通过小肠黏膜进行跨细胞扩散的先决条件。传统上，药物的脂溶性以表观分配系数或正辛醇-水缓冲液（pH=7.4）的分配系数（log P）来表达，该系数对于离子化合物来说与pH相关[29]。总的来说，log P 低的化合物难以吸收，然而log P>−1的化合物的吸收令人满意[29]。药物具有一个最合适的亲脂性十分重要，因为太低或太高的亲脂性都无法获得最好的口服生物利用度。例如，Mori等[30]发现色氨酸二钠（log P<−3）在衍生化成为一个亲脂性的（二乙基）酯前体药（log P=1.78）后，口服吸收没有明显性提高。这个结果是由于在增加脂溶性的同时，水溶性显著降低（由195.3mg/mL降至0.0052mg/mL）造成的。同样，Wils等[31]首次报道高亲脂性（log P>3.5）降低药物通过肠上皮细胞的转运，导致体内药物的生物活性降低。P 值的“拐”点，即药物最理想跨上皮细胞转运相应的 P 值被认为是在3000左右。高亲脂性的其他后果还有被动脱附[32]、增加血浆蛋白结合和胆汁分泌。胆汁分泌会限制多肽的口服生物利用度。

1.3 水界面层

水界面层或静水层（UWL）是一个相对静止层，为30～100μm厚，含有水、黏液和紧挨肠壁的糖外被，是由肠黏膜表面附近的肠腔内容物的不完全混合而产生的[33]。多糖-蛋白复合物由硫酸化的黏多糖组成，而黏液是由糖蛋白（黏液素）、酶和电解液混合而成。直到最近，UWL对于肠吸收的阻碍被认为与溶解物的有效肠通透性（Peff）有关。然而，值得注意的结果却表明，肠黏膜顶端膜的有效表面是溶解物经主动吸收和被动吸收的主要屏障[33]。另外需要注意的是，同时服用的食物和促胃肠蠕动（诱导运动）物质，如西沙必利，可能会通过分别增加分段的扩布性的收缩而减少UWL的厚度，这可能有助于药物在胃肠道内的溶解[34]。反之亦然，对于某些黏性可溶的膳食纤维，如果胶、瓜尔豆胶和羧甲基纤维素钠，可能会通过降低肠腔内混合而增加UWL的厚度[35～37]，并且可能减少脂溶性药物奎尼丁和硫喷妥钠的肠脱附[38]。

2. 口服给药的生物学屏障

2.1 肠上皮细胞屏障

覆盖于胃肠道表面的肠上皮层是口服药物吸收的主要物理学屏障。在结构上，它是由一层单层柱状上皮细胞所构成，主要是通过肠细胞和夹层杯状细胞（黏膜分泌细胞）紧密连接或闭锁小带在它们的顶端表面所形成。这些紧密连接是由细胞间接触表面上的膜蛋白的相互作用而形成，对于限制亲水性分子的细胞间转运有决定性作用。事实上，电生理学研究表明，当到达肠末端时，上皮细胞的连接更加紧密，结肠的细胞间吸收降低也证明了这一点[39]。

上皮层由下面的黏膜固有层和一层叫做黏膜肌层（3～10个细胞厚）的平滑肌所支撑。这三层，即上皮层、黏膜固有层和黏膜肌层，一起构成了肠黏膜[40]。在顶端表面，上皮细胞和黏膜固有层一起突出形成绒毛。组成绒毛的上皮细胞的细胞膜具有一致的微绒毛，这给了细胞一个绒毛状的边缘，统称其为刷状缘。这些结构，尽管大大地提高了小肠吸收的表面积，也带来了一个额外的酶屏障，因为刷状缘包含了肠消化酶。此外，如前所述，在上皮细胞层的上面有UWL层。以下将讨论上皮细胞屏障的代谢和生化组成。

2.2 胃肠转运

先进的控释剂型能够对大多数药物的释放速度或释放模式提供一个精确的控制，这从临床观点来看是十分吸引人的，尤其是能最小化血浆药物浓度的峰谷差异和时辰治疗。例如，Alza 公司的胃肠治疗系统（GITS®）能够提供零级药物吸收，这一过程中药物从胃肠道吸收的速率是恒定的，并且不由胃肠道内可利用的药物量所决定。然而，没有任何控释系统能够控制胃肠道吸收药物的程度。这主要是由于不同胃肠道部位的药物吸收程度不同，这也部分构成对缓释（extended-release，ER）产品进行生物药剂学分类方案的基础[41]。因此，吸收的程度是间接地由制剂的胃肠转运时间（GI transit time，GITT）决定的，而不是由它的控释属性或是输送程序决定的[42]。总之，大多数药物的 GITT 相对较短（8～12h），这相应地影响了每日服药一次的制剂的开发[43]。

从口服给药的立场来看，由于大多数药物都倾向于在上消化道（胃、十二指肠和空肠）吸收，胃排空时间（GET）和小肠转运时间（SITT）都很重要。此外，胃和肠都有一个特定部位用于药物吸收，被称作“吸收窗”。较短的 GET（1～3h）和 SITT（3～5h）会导致药物在主要吸收区域的吸收时间有限。这些问题被胃排空过程中的高度可变性进一步加重。胃排空过程因一些生理学因素而有所差异，如食物、年龄、姿势、运动、体重指数和生理节律等；还与病理学因素相关，如应激、糖尿病、克罗恩病（Crohn'disease）和运动失调；以及药物学因素，如制剂的密度和大小、合并用药，如合用副交感神经抑制剂和促进胃肠蠕动药物。显然，胃肠转运对于完全在胃肠道吸收的药物和能在胃肠道停留相当长时间（14～18h）的药物制剂的生物利用度不是一个至关重要的决定因素。

已经证明 SITT 是恒定的，实际上它和食物以及释放单元的大小、密度等物理特性无关[44]。总 GITT 的变化主要取决于胃的排空过程。这一变化相应地会导致血浆药物水平的不可预测，会严重地影响到脉冲式或定时释放装置的性能，这些设计主要是为了让药物在预定的时间到达消化道的指定部位。例如，如果转运时间在个体内有很大的差异，时间-释放装置的使用可避免药物在胃肠道不恰当部位的错误分布[45]。

2.3 食物作用

在服药时同时进食会导致药物吸收的减少、延迟、增加或加速，这些变化可能会有药动学和药效学意义[46]。通常，食物的作用是非特异性的，是食物的生理学作用（例如，延后胃排空、刺激胆汁分泌、增加肝脏血流、调节胃和十二指肠 pH）和药物物理化学特性（如水溶性），或者药物制剂（如大小、结构组织和溶出特性）等相互作用的结果。总的来说，最受影响的药物是那些主要在上消化道吸收和（或）难溶于水的药物。显然，食物对于那些具有与 pH 无关的溶解性并能够适度溶解的药物，和那些在胃肠道能够被完全吸收的药物（如格列吡嗪、5-单硝酸异山梨酯、非洛地平和硝苯地平）的影响不具有临床意义。此外，食物可通过影响药物由亲水性骨架和脂质骨架的制剂的释放来间接地影响药物吸收。在前一种情况下，可能是由于增加胃运动而提高了水动力学机械压力而产生的[47]。后者是由于增加胰液和胆汁的分泌，进而影响了骨架的完整性[48]。

另外一个影响口服给药的潜在因素是上消化道的 pH[49]。不同年龄、食物和某些疾病状态、生理节奏周期[50,51]、多种胃肠道疾病[49]和药物间的相互作用[7]会对此因素产生影响。

3. 口服给药的代谢和生物化学屏障

3.1 系统前代谢

口服药物易于系统前代谢。系统前代谢机制分为如下三种情况：

（1）肠腔代谢，可由胰腺分泌的消化酶（淀粉酶、脂肪酶和肽酶，如胰岛素和 α-胰凝乳蛋白酶）所激发，也与肠道菌群的代谢产物有关，尤其是在胃肠道下部。

（2）首过肠代谢，包括刷状缘代谢和细胞内代谢。前者通过刷状缘膜内的酶而发生在肠黏膜上皮细胞表面。此外，越接近小肠，刷状缘的活性越大（十二指肠≈空肠＞回肠＞结肠），参与的酶有碱性磷酸酯酶、蔗糖酶、异麦芽糖酶和相当数量的肽酶[7]。

细胞内代谢发生在肠黏膜上皮细胞的细胞浆中，参与的有大部分Ⅰ相代谢酶（如细胞色素 P450，尤其是 CYP3A4），几个Ⅱ相共聚酶，以及其他的，如酯酶等。肠Ⅱ相代谢的重要例子包括去甲肾上腺素和特布他林的硫酸化，以及吗啡和普鲁泊福的葡糖苷酸化[52]。肠上皮细胞作为吸收前代谢发生部位显然是多肽药物和阿司匹林等酯类药物生物利用度低的重要原因，尽管它可以是酯类或酰氨类前体药物靶向给药的一个重要部位[52]。

（3）首过肝脏代谢。当药物吸收后通过门静脉循环到达肝脏，在它到达全身循环前，给药剂量的一部分会被生物转化，这就是首过肝脏代谢。相对于肠，肝脏由于它的体积大，富含大量的酶族及其独特的解剖位置而在大多数药物的首过代谢中占有更加重要的位置[13]。然而，对有些药物来说并非如此。例如，特布他林的硫酸化主要发生在小肠，咪达唑仑在肠黏膜和肝脏发生的首过提取几乎相当（44%±14%和 43%±24%）[52]。这里需要强调的是在不同动物种属和不同的个体之间，首过代谢（包括肝脏的和肠的）存在相当大的差异，这在进行口服生物利用度估算时要有所考虑，尤其是对于难溶药物。

3.2 P-糖蛋白和其他外排系统

近年来，认为 P-gp 在肠黏膜的屏障作用中有重要影响。P-gp 是一个完整的膜蛋白，分子质量 170～180kDa，由 MDR1 基因编码，包括 12 个设定的跨膜区域和 2 个

ATP 连接区[53]。在小肠和结肠，P-gp 几乎仅在成熟肠细胞的刷状缘膜内表达，在那里作为一个能量依赖型药物外排泵。尽管 P-gp 看来在胃肠道都有广泛分布，但其在末梢部位的水平较高（胃＜空肠＜结肠）[54]。另外，一些研究显示，P-gp 和 CYP3A4 有相似的底物特异性（在参考文献[55]中加以综述）。P-gp 和 CYP3A4 在成熟肠细胞上的共同分布，以及它们重叠的底物特异性，充分说明这两个蛋白的功能是协同的，并被并列调控的[56]。因此，更大部分的药物将被代谢，因为这重复的双路动力学（药物通过 P-gp 由肠细胞脱附进入肠腔，又重吸收进入肠细胞）仅延长了药物与 CYP3A4 接触的时间[57]。这个机制不仅仅限制了许多药物的吸收，包括多肽，而且也在采取措施抑制 CYP3A4 或 P-gp 时，影响了潜在的药物的相互作用[58]。药物外排过程的其他机制可能包括有机阳离子和阴离子转运器，已在别处介绍[32]。

口服给药的常用技术

过去的 30 多年间，伴随着药物输送技术的显著发展，许多新型的口服药物治疗系统得以发明。尽管这些先进的 DDS 以传统的剂型生产或制备，如片剂、胶囊、冲剂、混悬剂、乳剂和口服液，但它们在疗效、毒性和稳定性等方面优于传统口服制剂[59]。根据预期的治疗目标，口服 DDS 可被分为 3 类：速释制剂、控释制剂和靶向释放制剂。

1. 速释制剂

速释制剂的主要目标是药物起效更快，如止痛药、退热药和冠状动脉扩张剂[17]。其他优势在于通过跨膜传输和胃前吸收而提高口服生物利用度[60]，方便吞咽障碍的患者给药，尤其是老年人和卧床不起的患者，另外还有一些新的商业机会[61]。常规的速释制剂包括使用泡腾混合物的快速崩解片剂和颗粒剂，如碳酸钠（或碳酸氢钠）和柠檬酸（或酒石酸），以及强崩解剂，如羧甲基淀粉钠、交联羧甲基纤维素钠和交聚维酮。目前，用于快速分散剂型的技术有改良片剂系统、絮状纤维或修剪技术，其中有离心力、控制温度以及冷冻干燥的应用[61]。表 2 对这些技术进行了简要介绍。

表 2 口服给药的速释制剂

技术所属公司和药物传输系统	简要介绍	特点	上市商品（药物）
Elan Corporation，plc，Dublin，Ireland，EFVDAS®	泡腾药物吸收系统。该技术允许开发用户友好的处方，服药方便、作用迅速	既可以在单一剂型中满足高药物装载量的要求，也有利于开发复合剂型	Ibuscent®（布洛芬）作为一个泡腾处方
Prographarm Group，Paris，France，Flashtab®[62]	一个由 Eudragit E 包衣的微粉化药物微粒片剂处方	能够在唾液中快速扩散，掩盖味道，为非处方和处方药物提供定制的药物动力学	Tachipirna Flashtab®和 Febrectol®（对乙酰氨基酚和扑热息痛）
R. P. Scherer Corporation，MI，USA，Zydis 系统®[60]	冻干多孔片，可在口中迅速崩解释放药物，随即在唾液中溶解或分散	提高口服生物利用度，通过跨黏膜传输和胃前吸收，提高患者的依从性	Maxalt-MLT®（苯甲酸利扎曲普坦）；Feldene Melt®（吡罗昔康）；Claritin® RediTabsTM（氯雷他定）；Innovace Melt®和 Renitec RPD®（依那普利）；Zofan®（奥丹西隆）；Zelapar®（司来吉兰）；正在进行临床试验的 Zydis 脱水吗啡

2. 控释制剂

目前，在口服给药中使用的控释技术有扩散控制系统、溶剂活化系统和化学控制系统[63]。扩散控制系统包括骨架型和以药物的扩散为限速步骤的储存型装置，分别通过聚合物骨架或聚合物膜控制药物的扩散。溶剂活化系统可被渗透压控制或由聚合体膨胀控制。化学控制系统释放药物是通过聚合物的降解（表面或整体结构溶蚀）或药物从聚合链上断裂[63]。一些基于控释原理而研发出的最新市售产品的例子在表 3 中列出。这里值得一提的是，一个最终控释产品所谓的程序设定释放（定制释放）特征不仅仅是单一的药剂学原理运用的结果。针对研究药物的特殊物理化学性质以及预期的治疗目标，在同一剂型里可能均衡地组合了不同的配方和控释原理。当根据原则选择适当的聚合体和辅料时，这一任务得以具体化而变得较为简单。

表 3 口服传输的控释制剂

技术所属公司和药物传输系统	简介	特性	上市商品（药物）
ALZA Pharmaceutical，CA，USA			
初级渗透泵	骨架中会有水溶性药物和渗透压发生剂在溶液状态释放药物	药物释放与胃肠运动和肠腔液的 pH 无关	氯化钾
OROS® 推挽控制系统	隔开渗透剂层和药物层，在溶液或混悬状态释放药物	能够输送水溶性极低到很高的药物	Procardia XL® 和 Adalat CR®（硝苯地平）每日服一次的片剂；Glucotrol XL®（格列吡嗪）
OROS® 延迟推挽控制系统	延时控制释放（COER-24TM）系统	具有能与生理节奏变化同步的释放特性，因而在风险较高阶段及整个给药间期，提供了一个保护措施	Covera-HSTM（维拉帕米）
OROS® 三层推挽控制系统	多层，能够使化合物模式化的、脉冲的或延迟传输		
OROS® 推黏控制系统	针对需要高载药、优化延迟的、模式化的或脉冲式释放的不溶药物的传输系统		
OROS®-CT	结肠靶向传输系统，用于局部或全身治疗	能够在 24h 内在结肠内保持一个恒定的药物输入，或者在 4h 的间期内传输药物；多肽和蛋白质的口服传输	Chronset®
OSMET®-CT	一个微型渗透泵，作为临床试验研究工具	该系统能用于开发结肠定位给药系统的人体结肠吸收研究	
L-OROS®	一个渗透系统，用于不溶于水的药物或多肽的亲脂性液体制剂的释放		Nystatin
MOTS®	黏膜口服治疗系统。在 OROS 推挽控制技术基础上，延长药物口腔作用时间的控释渗透系统	适于局部和整体的治疗	
Duffar BV，Weesp，Netherland			
梯度骨架系统[64]	一个多单元的骨架系统，使用一种包衣技术将一定量的药物置于骨架的核心。此外，一个惰性辅料（木糖醇）被反浓度梯度添加，因而避免在系统外表面形成一个屏障层	易溶性药物以零级释放	对乙酰氨基酚、盐酸美贝准林
Elan Corporation，plc，Dublin，Ireland			
PHARMAZOME®	一个多微粒药物输送技术用于制备控释和气味掩盖的制剂，如口服液、混悬剂、泡腾和咀嚼片、可复溶的粉末、单剂量小囊和喷剂	从 PHARMAZOME® 释放，可以经控制而达到理想的效果，如速释、控释和（或）缓释	Theo-Dur®（茶碱）作为每日两次的糖浆和每日两次的喷剂

续表

技术所属公司和药物传输系统	简介	特性	上市商品（药物）
SODAS®	类似球形的口服药物吸收系统。一个以控释珠产生多微粒剂型（胶囊和片剂）的药物输送技术	针对一个药物的药物传输需要而定制适宜的释放速率；不考虑进食状态而控制吸收	Cardizem® SR（盐酸地尔硫䓬）每日两次制剂；Cardizem® CD（盐酸地尔硫䓬）每日一次制剂；Verelan®（维拉帕米）每日一次制剂，Morphelan（吗啡）每日一次制剂（临床试验中）
Pennwalt Corporation，NY，USA			
Pennkinetic™系统	该系统结合了离子交换和膜扩散的控释原理，是以一个离子交换聚合物与药物的复合体作为核心物质，其外再包以乙基纤维素，形成一个水不溶但可以穿透的包衣	释放速率是相对恒定的，不受胃肠道条件变化的影响。系统可以制成胶囊和混悬剂	Delsym®（右美沙芬）、Corsym®（扑尔敏）和 Cold Factor 12®（去甲麻黄碱）
Skye Pharma AG，Muttenz，Switzerland			
Geomatrix®系统[65]	一个多层片技术，含有活性成分的亲水骨架核、一个或两个不可穿透或半穿透的多聚屏障层。屏障层分别通过薄膜包衣或压缩包衣覆盖在内核的一面（双层系统）或两面上（三层系统）	一个水溶药物或几个不同水溶性药物在 24 h 保持恒定的药物释放	Dilacor® XR（盐酸地尔硫䓬）作为每日一次制剂；Diclofenac Ratiopharm® Uno（双氯酚酸钠）；硝苯地平作为每日一次剂

3. 靶向释放制剂

定位口服给药要求给药装置空间定位于消化道内某个预期部位。尽管完全可能将装置在消化道的任一部位内进行定位，在口腔和结肠定位给药比在胃和大肠、小肠相对容易。后者要求考虑胃肠约束的纵向和横断面[66]。本章将介绍一些潜在的控释系统和定位给药系统。

3.1 胃滞留系统

胃滞留系统（GRDDS）是在延迟胃排空和控释原理的基础上设计的，目的在于将给药系统牵制和保留在胃里或小肠上部内，直到所有的药物都释放。各种达到胃保留的机制（方法）包括浮力（漂浮系统）[43]、黏膜黏附（生物黏附系统）、沉淀（高密度系统）、扩充（膨胀和扩张系统）以及几何学（形状改良系统）。其他方法包括药或脂肪酸盐的合用，或模拟给予不消化物（如聚长波菲）或可被酶消化的水凝胶[67]等，可将胃的运动模式转化为进食状态。

基于现有发表的文献，GRDDS 的应用可被归纳为如下几类具有不同物理化学特性和生物药剂学特性的药物：

- 要求药物在胃部具有局部治疗作用。米索前列醇、5-氟尿嘧啶、抗酸和抗反流剂、抗幽门螺旋杆菌药物和某些酶。
- 在胃或小肠上部的特定部位吸收的药物。阿替洛尔、呋噻米、左旋多巴、对氨基苯甲酸、吡咯他尼、5′-核黄素磷酸、沙丁胺醇、索他洛尔、舒必利和维生素 B_1。
- 在胃肠道下部不稳定的药物。卡托普利。
- 在肠液中不溶解的药物（酸溶解的碱性药物）。氯氮䓬、氯苯那敏、氯桂嗪、地西泮、地尔硫䓬、美托洛尔、普萘洛尔、奎尼丁、沙丁胺醇和维拉帕米。
- 生物利用度可变的药物。盐酸索他洛尔和左旋多巴。

总体目标是以可以预期的方式延长总 GITT，后者是控释剂型临床疗效的主要决定因素。这能有助于提高药物的生物利用度，尤其是那些在小肠内吸收部位有限的药物[第（2）类]。

难溶药物的吸收受溶出速率的限制，当利用这一途径提高它的口服生物利用度时，必须考虑以下几点：

- 优化延长胃保留时间（GRT）应该依据在体内完全溶出的时间来进行。换言之，如果在正常胃保留时间内，药物固有的物理化学特性和胃的生物学环境满足所需剂量的完全溶解，延长胃保留时间不再有任何意义。
- 胃滞留提高的溶出速率不会自动地转化为生物利用度的增、减变化。如同前面针对常规剂型所提及的，当服用 GRDDS 时，这一特征更加取决于药物吸收的速度和程度是否主要是由溶出来限制[34]。

另外，由于胃是弱酸类药物理想的吸收部位之一，药

物从GRDDS释放时不应有延后时间。髓袢利尿药需要这类给药系统，如速尿和吡咯他尼。在这类药物中，需要一定量的药物在胃内释放以获得更加平衡的生物利用度[17]。因此，这个特性促进了用于这些酸性药物的漂浮系统的发展[68,69]。

显然，像硝苯地平、单硝酸异山梨酯和硝酸异山梨酯等药物，具有非特异性的、广泛的吸收部位，能够在整个胃肠道被吸收，不能成为GRDDS的适宜候选对象。此外，对胃黏膜有刺激的药物[43]和那些首过效应明显的药物也会有一些局限[1]。后一类的相关例子有硝苯地平、普萘洛尔、左旋多巴、地尔硫䓬、美托洛尔和5-氟尿嘧啶。

3.2 黏膜黏附系统（MADDS）

黏膜黏附通常用于描述整个胃肠道表面的黏液层和天然或合成的生物黏附聚合物的相互作用[70]。从口服给药的立场，这些系统用于使药物输送装置在胃肠道某选定区域停留和固定。这一选定区域可以是口腔（口颊和舌下通路）、食道、胃、小肠或结肠（口服途径）。对这一领域的研究主要集中在聚合微粒和纳米微粒系统的设计，使用亲水性聚合物主要是由于它们倾向于与黏膜表面相互作用[71]。

最近的一篇综述认为，聚合物的黏膜黏附，尤其是水凝胶，是由于表面现象和扩散现象一起引起聚合物和黏膜表面间形成“半永久”交链桥所致[72]。黏膜黏附的各种可能机制包括降低界面间张力、黏膜黏附聚合物和黏液的相互渗透、在黏附（黏液）表面形成一个双电层以及一个氢键和（或）范德华吸引力的形成[70]。

MADDS的主要优点包括如下几个：

（1）使药物输送装置和吸收膜的接触紧密和延长，从而有可能使药物吸收速率和程度最大化。

（2）延长和控制剂型的胃肠转运时间。

（3）特定部位的药物传输，有可能用于一些需要局部治疗的情况，如复发性口腔溃疡、胃炎、食道癌、牙痛，以及用于糖尿病和心绞痛等全身性疾病[73]。

（4）可用于肝脏首过代谢大的药物的传输（研制成口腔和舌下的MADDS）。

上市的黏膜黏附制剂有Aftach®口腔片（乙酸曲安奈德）、Susadrin®舌下片（硝化甘油）和Buccastem®口腔片（丙氯拉嗪）。

3.3 肠溶包衣系统

肠溶包衣系统（enteric-coated systems，ECS）利用聚合物包衣，在胃液中不溶，因而避免或阻滞了药物在胃中的释放。现在有多种离子化聚合物商品，它们在pH为4.8～7.2时溶解[74]。肠溶系统通常应用于如下四类药物[75]：

（1）在胃部环境不稳定的药物，如红霉素、青霉素V、胰酶和胰岛素。

（2）刺激胃黏膜和引起恶心呕吐等不适副作用的药物，如阿司匹林和其他非甾体抗炎药（萘普生等）。

（3）适合开发为延时释放（时间控制释放）剂型的药物，可延后3～4h[74]。

（4）在肠内特定部位吸收的药物。

肠溶包衣制剂的商品有Abbott公司的Ery-Tab®（红霉素）、Astra Merck公司的Prilosec®（奥美拉唑）、McNeil Pharmaceutical公司的Pancrease®（胰脂肪酶）和SmithKline Beecham公司的Ecotrin®（阿司匹林）[76]。

3.4 结肠定位药物传输系统

结肠定位药物传输系统（colon-specific drug delivery systems，CSDDS）用于使药物在回肠末端和近结肠处靶向释放。输送药物到胃肠道的这些部位有双重目的。首先，针对结肠疾病治疗提供局部传输，如炎症性肠疾病（溃疡性结肠炎和克隆病）、结肠癌、局部肠痉挛和便秘。其次，输送治疗使用多肽和蛋白质，如胰岛素、降钙素、血管加压素、环孢素A、乳链菌肽和细胞因子。此外，从生物周期节律的观点来看，药物输送到结肠也有优点，因为它可以为某些有夜晚或凌晨发作特征的疾病（哮喘、高血压、关节炎、心律失常等）提供药物的夜间释放[77]。

目前，可通过以下四个方案获得结肠定位药物传输[78]：

（1）pH控制系统。这一系统利用小肠和大肠之间的pH的差异。其方法包括用pH敏感的聚合物进行药物包衣，如Eudragit®。商品有Asacol®（美沙拉嗪用Eudragit S包衣，适于pH≥7），Salofalk®、Claversal®和Mesasal®（美沙拉嗪用Eudragit L-100包衣，适于pH≥6）。

（2）酶控制系统，也被称为微生物控制系统。利用结肠微生物菌群的酶活性，主要使载糖的聚合物或偶氮聚合物分别发生糖苷降解或偶氮还原。也可以采用前药方法，其前体基团在胃和小肠的环境不被降解，但易于在结肠内降解。这类前药制剂有Pharmacia and Upjohn公司的Dipetum®胶囊（奥沙拉嗪钠和奥柳氮钠）、Salix Pharmaceuticals公司的Colazide®片（巴柳氮钠）和Intestinol®（苯沙拉嗪）。

（3）时间控制系统。这些系统基于相对一致的小肠转运时间，为3～5h。显然，药物在一个预定的延滞期（如≥5h）后由此系统释放，可通过调节屏障的厚度和（或）成分组成（如包衣）来精确设定。范例有TIME-CLOCK系统（t_{lag}=8.85h ± 0.90h）[79]、Pulsincap®系统（t_{lag} = 5.40h ± 2.53h）[80]、Geomatrix®系统（空腹状态t_{lag}=17.3h，进食后t_{lag}=12.5h）[81]、Chronotopic®系统（t_{lag}=5～6h）[82]。

（4）压力控制系统。这个系统基于可暂时增加肠腔压力的结肠强蠕动波。

提高药物输送的途径

1. 化学修饰方法

作为一个总原则，口服有效分子的设计必须考虑到结

构修饰在水溶性、脂溶性、稳定性（化学的和酶的）和治疗指数上的影响。前体药物设计是一个改善这些药物属性的常用方法。前体药物可被定义为一个药物的化学衍生物，可被生物转化成为活性母体药物或一个可产生治疗作用的活性代谢物。前体药物包含重要的一个激发部位以便于预测它的体内命运，以及控制生物转化速率。常用的激发剂有酯、酰氨、碳酸盐、氨基甲酸盐、偶氮和糖苷（用于结肠定位传输）键。此外，前体配基（前体基团）应该是无药理活性、无毒和易于排泄的。从口服传输角度，一个前体药物的设计应该有以下目标：

（1）提高药物的口服生物利用度。一个药物全身输送的提高取决于前体药物通过屏障的潜能，如在下消化道的通透性低和明显的首过效应[83]。

（2）通过一个特定靶向生物活化机制来获得一个特定部位的药物传输。

（3）在保持其体内生物活性的前提条件下，如果药物的输送（转运）特性可被改良，这些目标都是可以达到的。据此，母药的特性，诸如脂溶性、水溶性、分布系数和化学性质及代谢稳定性经优化后，通常是一个“平衡的”组合。

基于前体药物的定义，针对口服药物提出以下分类：

（1）脂溶性前体药物，包括微溶于水的盐类（如聚半乳糖醛酸奎尼丁，Cardioquin®）、酯类（如依那普利，Vasotec®；雷米普利，Altace®；赖诺普利，Prinivil®）或复合物。

（2）水溶性前体药物，包括水溶盐类和酯类（如磷苯妥英钠，Cerebyx®）或复合物。

亲脂性酯类的合成是提高药物脂溶性的最常见方法，这在很大程度上取决于体内酯酶的普遍存在和它们提高药物经淋巴通路吸收的可能[10]。简单地说，其方法是通过掩盖（或隐藏）带电极性基团，如羧酸、磷酸盐等，或者亲脂的酰基和母体分子的羟基结合[84]。一旦前体药物被吸收了，它就被酯酶水解，在此释放母药。

与以上方法相反的是，水溶性前体药通过一个药物的羟基、氨基或羧基和一个前体配基的酯化形成，这个前体配基的意义在于使分子可被离子化或减少引起低溶解性的分子间的相互作用[19]。然而，在选择一个合适的药物候选者前，有必要保证所选难溶于水的药物的所需治疗剂量足够高，以至于它（体内）完全溶出的预测时间远远超过在局部胃肠内停留的时间[19]。

由于较高的水溶性，一个水溶性前体药物相对于它的母体化合物，能够在肠腔提供一个较高的浓度梯度（驱动力）以利于吸收[19]。这个前体药物的进一步命运将由亲水的前体配基和各种酶的亲和性来决定。例如，如果前体配基易于被一种膜键合的刷状缘酶所断裂，亲脂的和能透过的母体药物将在黏膜附近被释放，因而可用于随后的吸收[19]。另外一个例子是，如果前体配基被下消化道菌群微生物产生的酶所断裂，亲脂性药物将会通过结肠黏膜所吸收[85]。含糖苷和糖苷酸的前药分别是利用细菌的糖苷酶和糖苷酸酶。然而，天然环糊精（酯类）与药物的复合物也易于被肠道菌酶降解，而这些复合物不受胃部的酶和肠酶降解。这一发现提示它们属于延时释放型前体药物，可获得结肠定位传输[17]。

另一个提高口服生物利用度的有趣方法是设计所谓的前体药物的前体药（如“前-前药”或“双重前体药”）。该方法通过一个预计会被水解的功能团来保护苯甲酚（或苯胺）衍生物[25]。显然，活性药物是从一个两步的水解反应的不稳定中间体产生的。大多数情况下，第一步限速过程，是一个酶裂解反应，而第二步较快，为中间体的分子分解反应[86]。这个方案看来增加了难溶药物几个数量级的通透能力，如类固醇[87]。

Greenwald 等[25]描述了一个复合的方法，这个方法综合了双重前体药的概念和用亲水性的聚合物 PEG 化学共轭来提高透过。此方法对抗癌药物柔红霉素的输送有效。虽然该论文的作者没有进一步地研究，该方法除了提供高口服生物利用度和肿瘤选择性外，可能也有抑制多药抗药性（multidrug resistance，MDR）的作用。这一结论可部分被一个最近的发现所支持，即基于 PEG 的表面活性剂能够影响 P-gp 底物结合，进而抑制 MDR[88]。

口服前体药物的设计目的不局限于提高口服生物利用度和药物靶向传输。近来，Kimura 等[89]提出了一个新的结肠靶向观念，在用于溃疡性大肠炎口服治疗时能够避免皮质醇类的全身性副作用。该设计包括一个前药的糖苷前体药的合成（前-前药）。产生的前-前药由于前配基的极性是亲水的，因而在豚鼠的小肠不吸收。然而，通过在结肠内被结肠细菌所作用，它们可以产生相应的前药。前药因而在结肠黏膜可以产生局部药理作用，当它进入全身循环，就迅速代谢为一个无活性的代谢物，这导致了没有产生全身性作用。为了达到相似的目标，Bodor 等[90]利用一个“软药”概念，将先导药物进行改良，获得的新的活性药物在发挥了它的疗效后，在体内经历了一个可预测和可控的代谢进而成为无毒的配基。

在另一篇最近发表的论文中，Otagiri 等[91]提出了一个新观念（“互为前药”或“嵌合体药物”），将两个不同药理活性的药物组合在一起，在保留它们各自的治疗作用和生物药剂学特点的同时，达到提高药理活性或避免临床副作用的目的。有时，通过将一个难溶于胃肠液的药物制成盐或复合物，可用于开发口服 ER 剂型[92]和改变药物在胃肠道的吸收部位[93]。

由于多肽和拟多肽（例如，β-内酰胺抗生素）的治疗潜能，以及相应广泛存在的肽酶和酯酶，近年来使用前体药方法来提高它们的口服生物利用度已经获得了相当关注。类似于非多肽的前体药物，为了模拟营养性底物的吸收和代谢特征，肽和蛋白前体药物的设计取决于它们对各种酶的代谢敏感性（如氨基肽酶、羧肽酶、二肽酶和 α-胰乳蛋白酶等）。这一方法主要集中在 N 末端的修饰（如氨基酸酯方法）。然而，为了拓宽这一方法在提高多肽和拟多肽临床口服上的应用，有必要结合结构特征进行以下优化，如分

子的药剂学特性（如溶解性）、生物药剂学特性（如代谢稳定性和膜通透性）和药理学特性（如受体亲和）[94]。

另外，口服前体药的上市制剂例子有 GlaxoWellcome 公司的 Ceftin®（头孢呋辛酯）、Hoechst Marion Roussel 公司的 Anzemet®（甲磺酸多拉司琼）、Novartis 制药的 Trileptal®（奥卡西平）和 Schering-Plough 公司的 Claritin®（氯雷他定）。

2. 制剂方法

2.1 吸收促进剂的使用

长期以来，合用吸收促进剂可以提高几种亲水药物的肠通透性，如多肽和蛋白质。市场上有许多吸收促进剂，包括胆盐、表面活性剂、脂肪酸、水杨酸盐、甘油酯、螯合剂等。尽管这些促进剂可以提高药物的吸收，但有一些吸收促进剂可能会造成黏膜损伤和全身性毒性，为制剂开发而选用它们之前，要先考量它们的安全性。理想的口服输送促进剂是那种能可逆地解开紧密连接或暂时地增加膜通透性，并且效益/风险比较高的物质。对于这些问题，在此无法过多叙述，两篇优秀的综述文章做了更加详尽的介绍[95,96]。

对于渗透路径，渗透促进剂可能通过细胞间或穿细胞通路或二者的结合起作用。总的来说，大多数有前途的吸收增强剂主要通过改进细胞间的通透来增加药物转运[96]，因为穿细胞药物转运不是亲水药物（包括多肽）的最可能通路。那些通常被当成是细胞间转运促进剂的基本上是通过一些途径增加水孔半径。例如，EDTA 通过耗竭紧密连接处的钙和镁而起到一个细胞间促进剂的作用[3]。有趣的是，最近的一个机理研究显示，构成泡腾剂的重要成分碳酸盐可被看成细胞间路促进剂，因为它所产生的 CO_2 可能影响紧密连接的结构完整[97]。

相反的，穿细胞促进剂通过干扰膜提高口服吸收[98]。大多数作用在细胞内的脂质，通过增加流动性、增溶或重组膜内的磷脂域而破坏膜的完整性[99]。膜流动性的改变主要通过这些促进剂和膜蛋白的相互作用而发生。这种促进剂的例子有水杨酸钠和辛酸钠[98]。更有趣的是，有足够的证据提示，非离子表面活性剂（如 Cremophor EL 和吐温 80）可能通过抑制 P-gp 介导的反转运作用而提高药物的通透性[100,101]。尽管确切的抑制机制还不清楚，但这些表面活性剂可能直接作用于黏膜表面的 P-gp 蛋白，因而减少了肠黏膜表面的药物泵出[101]，或者降低了膜脂质流动性[102]。

2.2 代谢抑制剂的使用

如前所述，药物的系统前代谢可能通过各种机制发生。因此，将低生物利用度的药物和能够选择性抑制任何相关代谢过程的抑制剂合并给药，将导致吸收分数增加，进而提高生物利用度。事实上，这个方法有望突破代谢不稳定口服药物的酶屏障，如多肽和蛋白质。

目前，这一领域的新方法有：①生物黏附输送系统，通过提供一个和黏膜的紧密接触，可以降低传输系统和吸收膜之间的药物降解；②控释微囊化系统，可以使药物和它的特异性酶抑制剂同时传输到所需的部位并保留预期时间段；③将酶抑制剂固定在黏膜黏附输送系统上[103]。

有趣的是，同时服用某种药物和食物可选择性地抑制肠细胞的某种酶，进而也可能抑制肠壁代谢。例如，环孢素，由于参与广泛的肠代谢，导致其仅有 30%～40%的低生物利用度[104]。研究显示，同时服用酮康唑[105]和有抑制性成分的胡柚汁[106]，能够显著抑制系统前代谢（都是经由肠选择性抑制，而不是通过肝脏，CYP3A4），因而增加环孢素的口服生物利用度。然而，酮康唑和胡柚汁是以不同的方式起作用，前者适度地抑制 P-gp[55]，而后者活化 P-gp 介导的环孢素的外排。环孢霉素是一个很典型的 P-gp 底物，因而部分抵消胡柚汁的 CYP3A4 抑制作用[107]。

同样，同时服用一个能够选择性抑制肝药酶的药物可能会导致另一个药物的生物利用度的增加。例如，同时服用红霉素能够导致肝脏代谢的抑制，因而明显增加环孢素的口服生物利用度[108]。事实上，红霉素的这个作用是有选择性的，可用于进行体内肝 CYP3A4 活性的无创测定，广泛称为红霉素呼吸测试[109]。还有许多与饮食对肝首过代谢作用相关的例子，在其他地方进行过详细讨论[110,111]。因而，以我们的观点，通过饮食减少系统前代谢看来是一个有前途的选择，尤其是考虑到常规医疗手段的成本效力和临床接受度。

2.3 离子对与包合物

离子对途径涉及亲水性药物或极性药物与一个适当的亲脂性带相反电荷的离子协同给药，形成的离子对相对亲脂，能增加分配到小肠黏膜的比例。实际上，此途径相对地增加了离子型药物的口服生物利用度，如阿替洛尔，其利用度几乎增加了 2 倍[112]。然而，反离子具有高的亲脂性、充分的水溶性、生理相容性和代谢稳定性是非常重要的[112]。这一途径的一些成功的应用已经在以前的一些综述中介绍过[14,112]，因此在本章中不做进一步的解释。

包合物途径经常用于增加水不溶药物或微溶药物的水溶性和溶出速率，从这两个方面来增加口服药物的生物利用度。然而，在一些事例中，此途径被用来增加药物的稳定性，尤其是酯，控制药物释放的速率，改进影响感官的药物特征，最大限度地增加胃肠的耐受性，减少口服后药物的刺激性。β-环糊精通常被认为是非常有潜能的载体，但是其他的载体，如咖啡因、水杨酸钠、安息香酸钠和烟碱也被使用。这些芳香化合物和杂环化合物通过 π-电子供体-受体机制增加溶解度[21]，然而β-环糊精主要是通过其中心亲脂性孔穴与非极性客体分子形成包合物，并不涉及非共价键的形成或断裂[20]。

作为亲水性的β-环糊精可以使非水溶性的药物溶解，因此能够增加药物在 GI 黏膜表面的可用性（药物溶解分配进入膜），其结果是导致药物吸收的增加。然而，适宜的环糊精浓度是非常必要的[20]。此外，有大量的不同的环糊精的衍生物上市销售，可以用来设计先进的口服 DDS。例如，

亲水性和离子化的环糊精能够作为有效的药物载体制成IR或延迟释放的剂型，而疏水性的环糊精被用来延缓水溶性药物的释放，如地尔硫䓬和硝酸异山梨酯[17]。市售的用β-环糊精形成的包合物有Chiesi Farmaceutici SpA公司的Brexinv®片（吡罗昔康）、Roussel-Maestrelli公司的Surgamyl®片（苯噻丙酸）和Nippon Kayaku公司的Nitropen®舌下含片（硝酸甘油）[20]。

2.4 脂质处方

大量水难溶的药物通过形成溶液、凝胶、混悬液、乳状液、自乳化系统、多重乳液、微乳、脂质体以及固体分散颗粒等脂质处方为其口服提供多样的途径[113]。

药物以脂质载体（脂质配方）的形式给药，通过多种不同机制进行相互作用，有利于提高药物的吸收和口服生物利用度[14,114]，简单的综述如下：

（1）物理化学——提高溶出与溶解度。

（2）生理学——减慢胃排空（因此增加溶出与吸收的时间），刺激胆汁的流动与胰腺的分泌，胆盐的胶囊增溶，增加肠上皮细胞的膜通透性，增加通过肠摄取进入淋巴系统的量，减少肠的血流量，减少肠腔的降解以及减少通过胃肠道与肝脏的首过代谢。

实际上，许多难吸收的药物通过与高脂食物同时服用，通过以上这些机理能够增加其生物利用度[115]。

此外，最新的研究提示，脂肪可以通过调整生化过程，影响脂溶性药物的口服生物利用度。例如，Barnwell等[116]发现，亲脂性药物普萘洛尔与油酸同时服用可以增加其生物利用度。为此，作者提出两种可能的解释：第一，油酸可以通过激活淋巴的产生来促进普萘洛尔淋巴吸收，避免发生首过效应，导致生物利用度增加；第二，油酸可以逆转由普萘洛尔抑制的淋巴生成。这个假设与以前的发现相一致（见文献[116]），主要是由于少数脂溶性药物包括普萘洛尔，抑制蛋白激酶C（PKC是调整细胞信号传导的关键酶，从而控制细胞的分泌，包括淋巴的产生），油酸可以逆转普萘洛尔引起的PKC抑制。

同样，其他的一些研究提示，某些脂质配方是有效的P-糖蛋白反转运系统的调节剂[88,100,117~119]，这为某些个别例子中药物转运提高提供了定性的解释，如环孢菌素与水溶性维生素E合用，可以增加环孢菌素的生物利用度[120,121]。因此，以脂质为基础的途径可能是将来口服药物治疗费用（效果）最为理想的策略。

同时，一些脂质的赋形剂应该引起人们的关注，如氢化油（Cutina®，HR）、聚乙烯油（Cremophor® RH 40）、硬脂酸、山嵛酸甘油酯（Compritol® 888）、甘油单硬脂酸酯、甘油棕榈酸酯（Precirol® ATO 5）以及饱和的多聚乙二醇甘油酯（Gelucire®），作为非水溶性的载体开发SR/CR片，特别是作为水溶性药物，如盐酸地尔硫䓬[122]和盐酸去甲麻黄碱[123]，以及其他药物，如茶碱[124]。然而，胃内饮食状态也很可能会影响这类药物的崩解[125]，因此适当推荐进餐时间以确保药物吸收的重现与临床效果。实际上，高脂饮食的作用非常重要，由于高脂饮食可以促进胰腺与胆汁的分泌，从而影响片剂的脂质基质[48,124]。相反，以油的半固体骨架系统填充于硬明胶胶囊形成的SR剂型在饮食状态下可以延长药物的作用，主要是由于延迟胃排空（包括食物与油载体），最终导致吸收相的延长[126]。

然而，上市的品种数量有限，主要是因为产品的稳定性不好，以及在大规模生产时有困难。列表中包括Sandimmune Neoral®（环孢菌素A）为微乳预浓缩液的软胶囊和溶液，Sandimmune®（环孢菌素A）含有微乳预浓缩液和脂溶性维生素。这两种形式的环孢素均具有自乳化的特性，在胃肠道的水溶液里各自自发形成o/w微乳（粒径小于0.15μm）与o/w乳剂[127]。

在本章讨论脂质体、大泡囊、微乳与固体分散剂型作为口服输送系统超过了讨论范围，有兴趣的读者可以进一步阅读最新的综述文献[23,128~130]。

2.5 给药系统的设计

理想的新型口服DDS的最终目标是提供所需的治疗响应，包括受控制的起效时间、必要的持续时间以及足够的药效强度，避免或减少可能的副作用。作为给药系统的设计，这个目标就是要求高级DDS能够精确地控制药物输送速率、时间与部位，不依赖于正常的生理学变化，如胃肠道pH、胃肠道消化状态、肠蠕动与生理节律。当然，收集全世界的口服DDS的信息是非常困难的，表2～表4按开发了相应技术的公司名称的字母顺序，列出了部分有潜力的高级DDS。

表4 多种高级和新式口服给药系统

技术拥有者和给药系统	简 介	特 性	上市商品（药物）
Cortecs International Ltd Teeside, U.K			
Halo™给药系统[131]	为了避免肝对药物的代谢采用淋巴输出的口服给药系统。一种肝脏旁路药物输送系统，它促进亲脂性药物从肝门静脉到淋巴系统的吸收和重分配，因此可避免首过效应	提高亲脂药物口服生物利用度	普萘洛尔、维拉帕米、硝苯地平、地尔硫䓬、美托洛尔、尼卡地平，或者拉贝洛尔
Elan Corporation, plc, Dublin, Ireland			
DUREDAS®	双重释放药物吸收系统。一个双层药片技术将速释微粒和控释亲水骨架置于一个药片中	来自同一剂型具有的两种不同释放率，或者两个不同药物的双重释放	

续表

技术拥有者和给药系统	简　介	特　性	上市商品（药物）
IPDAS®	肠保护药物吸收系统。由高密度控释小丸和快速释放的微粒组成的多颗粒片剂	片剂中药物的释放率是高度可变的，它可以根据用药者的需要和临床最佳效果改变释放率	Naprelan（萘普生钠）每日一次制剂
INDAS®	难溶药物吸收系统。提高水溶性差的药物的溶解性和吸收性的这种技术，促进了 CR 的发展	药物的吸收在 24h 内能保持一致	Nifelan®（硝苯地平）作为一个每日一次制剂
MODAS®	多孔口服药物吸收系统。单元的速释片剂，包含一个药物与辅料的内核与一个不崩解的定时释放包衣层	具有速释包衣层的多重或双重释放剂型	Bron-12®（一个 12h 多成分非处方咳嗽感冒产品），氯化钾（每日一次）
BEODAS®	生物溶蚀口服药物吸收系统。这种生物可溶蚀的微米（纳米）的粒子技术用于蛋白质和多肽的口服	口服疫苗	正在研发中
PRODAS®	程序化的口服药物吸收系统。通过将多颗粒装入胶囊，并和 IR 联合的技术，延迟了药物释放和（或）CR 的微片（直径 1.5～4.00mm）	将多颗粒和单一单元系统的益处结合起来的系统	尚不可得
LOCDAS®	局部药物吸收系统。一种新的定位口服输送技术。系统将靶向配基结合在包衣的蛋白和多肽药物颗粒上，再装入肠溶胶囊中．在 GI 道的特定部位沉积颗粒	增加通透性，最终提高大分子的口服生物利用度	正在针对胰岛素进行研制
罗氏公司			
HBS™	水动力学平衡系统，控释的口服制剂（胶囊或片剂），用以延长在胃中的滞留时间	增加溶解时间，延长吸收相，并改善药动学行为	美多巴 NBS，地西泮
Scherer 公司			
Pulsincap® 系统[132]	独特的控释胶囊，允许药物在 GI 道限定的部位和时间释放药物，如结肠	相同或不同药物，在胃肠道指定的部位长时间连续释药	正在开发
Sol™ 系统	为软胶囊的液体形式，将药物包在一个预先浓缩好的微乳中	蛋白质和多肽口服给药，通过减少体内与个体间药动学的变异而增加口服生物利用度	Sandimmune Neoral（环孢菌素）
Yamanouchi Shaklee 公司			
OCAS™	口服控制吸收系统，亲水凝胶口服控释系统，可以提供胃肠道 24h 的药物释放和吸收，包括结肠	适用药物范围广，包括小分子与多肽，减少食物的影响及血浆中药物的相互作用	无
CODES™	蛋白质、多肽和其他药物的结肠定位给药系统。核心配方由药物和乳糖组成，然后用肠衣包裹，再用阳离子聚合物包裹		胰岛素

Y

蛋白质与大分子的口服给药系统

过去20年中，口服输送蛋白质与多肽有了长足的进步，使科学家通过口服给药途径输送胰岛素、降钙素、肝素与部分疫苗成为可能。与常规的药物一样，蛋白质与多肽经口给药面临相似的挑战与生物障碍。当然，面临的更大问题是由于它们的代谢敏感性与自身的内部特性，如亲水性、荷电性及分子质量大（>600Da）。目前，常用的改善蛋白质与多肽口服输送的方法包括前药设计[18,94]、离子对途径[133]、微乳[134]、利用聚合物载体的特殊输送系统[135]、脂质体[128]、大泡囊[130]，以及代谢抑制剂[103]与吸收增强剂[136]。基于治疗药物的物理化学特性与输送部位等，将以上途径结合使用以提高口服的生物利用度或达到治疗靶位。定位输送的目标，特别是指定位到Peyer淋巴结M细胞，为口服输送疫苗提供了非常有前景的策略。

口服给药系统的未来

在最近的30年里，口服药物给药系统领域已经发生了空前的改变。这一变化的发生主要是由于人们在分子/原子水平上对药学与生物学限制的认识，药物候选化合物的增多以及部分先进技术的出现。总之，最新的文献综述资料提示[61,137]，这一领域产生的重大技术的进步不但是在药物输送方面，而且还发生在各种制备技术方面。尽管目前的现状是这一领域现存的技术还没有被全部使用，但是由于口服给药系统有利于提高患者的耐受性以及具有更好的治疗效果，因此口服产品每年的销售量总是排在药品制造业的第一位。此外，这些技术有利于制药公司通过延长专利保护来延长他们产品的生命周期。因此，可以预料目前的发展趋势是口服给药将为治疗药物，特别是生物技术药物的输送带来巨大的革命。

总结

尽管有挑战和局限，一些口服给药途径仍然是许多疾病治疗中多数生物活性物质的主要的和最优的传输途径。在优化经这一途径的药物输送时，需要通过考虑药物的理化性质、口服输送的生物学和代谢屏障、药物动力学原理和与患者相关的主要变化因素，仔细设计药物及其给药系统。因此，将不同配方和CR方法相结合，将在已有的和新的先导化合物的口服DDS开发中发挥重要的作用。

参考文献

1. Rouge, N.; Buri, P.; Doelker, E. Drug Absorption Sites in the Gastrointestinal Tract and Dosage Forms for Site-Specific Delivery. Int. J. Pharm. 1996, 136 (1, 2), 117—139.
2. Madara, J. L. Functional Morphology of Epithelium of the Small Intestine. Intestinal Absorption and Secretion; Field, M., Raymond, A. F., Eds.; American Physiological Society, 1991; IV, 83—120.
3. Tomita, M.; Shiga, M.; Hayashi, M.; Awazu, S. Enhancement of Colonic Drug Absorption by the Paracellular Permeation Route. Pharm. Res. 1988, 5 (6), 341—346.
4. Pappenheimer, J. R. Physiological Regulation of Transepithelial Impedance in the Intestinal Mucosa of Rats and Hamsters. J. Membr. Biol. 1987, 100 (2), 137—148.
5. Hebden, J. M.; Wilson, C. G.; Spiller, R. C.; Gilchrist, P. J.; Blackshaw, E.; Frier, M. E.; Perkins, A. C. Regional Differences in Quinine Absorption from the Undisturbed Human Colon Assessed Using a Timed Release Delivery System. Pharm. Res. 1999, 16 (7), 1087—1092.
6. Russell-Jones, G. J. Carrier-Mediated Transport, Oral Drug Delivery. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery; Mathiowitz, E., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; 1, 173—184.
7. Barthe, L.; Woodley, J.; Houin, G. Gastrointestinal Absorption of Drugs: Methods and Studies. Fundam. Clin. Pharmacol. 1999, 13 (2), 154—168.
8. Russell-Jones, G. J. The Potential Use of Receptor-Mediated Endocytosis for Oral Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 20 (1), 83—97.
9. Swaan, P. W. Recent Advances in Intestinal Macromolecular Drug Delivery Via Receptor-Mediated Transport Pathways. Pharm. Res. 1998, 15 (6), 826—834.
10. Charman, W. N.; Porter, C. J. H. Lipophilic Prodrugs Designed for Intestinal Lymphatic Transport. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 19 (2), 149—169.
11. Code, C. F.; Marlett, J. A. The Interdigestive Myoelectric Complex of the Stomach and Small Bowel of Dogs. J. Physiol. (Lond) 1975, 246 (2), 289—309.
12. Sarna, S. K. Cyclic Motor Activity: Migrating Motor Complex. Gastroenterology 1985, 89 (4), 894—913.
13. Thummel, K. E. Preface. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 27 (2, 3), 97—98.
14. Aungst, B. J. Novel Formulation Strategies for Improving Oral Bioavailability of Drugs with Poor Membrane Permeation or Presystemic Metabolism. J. Pharm. Sci. 1993, 82 (10), 979—987.
15. Yalkowski, S. H.; Valvani, S. C. Solubility and Partitioning I: Solubility of Nonelectrolytes in Water. J. Pharm. Sci. 1980, 69 (8), 912—922.
16. Robinson, J. R. Recent Advances in Formulation of Poorly Absorbed Drugs. Capsugel Library 1994, 59—63.
17. Hirayama, F.; Uekama, K. Cyclodextrin-based Controlled Drug Release System. Adv. Drug Del. Rev. 1999, 36 (1), 125—141.

18. Oliyai, R. Prodrugs of Peptides and Peptidomimetics for Improved Formulation and Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 19 (2), 275—286.
19. Fleisher, D.; Bong, R.; Stewart, B. H. Improved Oral Drug Delivery: Solubility Limitations Overcome by the Use of Prodrugs. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 19 (2), 115—130.
20. Loftsson, T. Pharmaceutical Applications of β-Cyclodextrin. Pharm. Technol. 1999, 23 (12), 40, 42, 44, 46, 48, 50.
21. Higuchi, T.; Kristiansen, H. Binding Specificity Between Small Organic Solutes in Aqueous Solution: Classification of Some Solutes into Two Groups According to Binding Tendencies. J. Pharm. Sci. 1970, 59 (11), 1601—1608.
22. Chaumeil, J. C. Micronization: A Method of Improving the Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1998, 20 (3), 211—215.
23. Serajuddin, A. T. M. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. J. Pharm. Sci. 1999, 88 (10), 1058—1066.
24. Chiou, W. L.; Riegelman, S. Pharmaceutical Applications of Solid Dispersion Systems. J. Pharm. Sci. 1971, 60 (9), 1281—1302.
25. Greenwald, R. B.; Pendri, A.; Conover, C. D.; Zhao, H.; Choe, Y. H.; Martinez, A.; Shum, K.; Guan, S. Drug Delivery Systems Employing 1, 4-or 1, 6-elimination: Poly (Ethylene Glycol) Prodrugs of Amine-Containing Compounds. J. Med. Chem. 1999, 42 (18), 3657—3667.
26. Sugimoto, M.; Okagaki, T.; Narisawa, S.; Koida, Y.; Nakajima, K. Improvement of Dissolution Characteristics and Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs by Novel Cogrinding Method Using Water-Soluble Polymer. Int. J. Pharm. 1998, 160 (1), 11—19.
27. Yamada, T.; Saito, N.; Imai, T.; Otagiri, M. Effect of Grinding With Hydroxypropyl Cellulose on the Dissolution and Particle Size of a Poorly Water-Soluble Drug. Chem. Pharm. Bull. 1999, 47 (9), 1311—1313.
28. Kubo, H.; Mizobe, M. Improvement of Dissolution Rate and Oral Bioavailability of a Sparingly Water-Soluble Drug, (+/—) -5- [{2- (2-Naphthalenylmethyl) -5-Benzoxazolyl} -methyl] -2, 4-Thiazolidinedione, in Co-Ground Mixture With D-mannitol. Biol. Pharm. Bull. 1997, 20 (4), 460—463.
29. Krämer, S. D. Absorption Prediction from Physicochemical Parameters. Pharm. Sci. Technol. Today 1999, 2 (9), 373—380.
30. Mori, T.; Nishimura, K.; Tamaki, S.; Nakamura, S.; Tsuda, H.; Kakeya, N. Pro-Drugs for the Oral Delivery of Disodium Cromoglycate. Chem. Pharm. Bull. 1988, 36 (1), 338—344.
31. Wils, P.; Warnery, A.; Phung-Ba, V.; Legrain, S.; Scherman, D. High Lipophilicity Decreases Drug Transport Across Intestinal Epithelial Cells. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1994, 269 (2), 654—658.
32. Arimori, K.; Nakano, M. Drug Exsorption from Blood into the Gastrointestinal Tract. Pharm. Res. 1998, 15 (3), 371—376.
33. Lennernäs, H. Human Intestinal Permeability. J. Pharm. Sci. 1998, 87 (4), 403—410.
34. Hörter, D.; Dressman, J. B. Influence of Physicochemical Properties on Dissolution of Drugs in the Gastrointestinal Tract. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 25 (1), 3—14.
35. Fuse, K.; Bamba, T.; Hosoda, S. Effects of Pectin on Fatty Acid and Glucose Absorption and on Thickness of Unstirred Water Layer in Rat and Human Intestine. Dig. Dis. Sci. 1989, 34 (7), 1109—1116.
36. Johnson, I. T.; Gee, J. M. Effect of Gel-Forming Gums on the Intestinal Unstirred Layer and Sugar Transport in Vitro. Gut 1981, 22 (5), 398—403.
37. Cerda, J. J.; Robbins, F. L.; Burgin, C. W.; Gerencser, G. A. Unstirred Water Layers in Rabbit Intestine: Effects of Guar Gum. JPEN. J. Parenter. Enteral Nutr. 1987, 11 (1), 63—66.
38. Huang, J. D. Role of Unstirred Water Layer in the Exsorption of Quinidine. J. Pharm. Pharmacol. 1990, 42 (6), 435—437.
39. Davis, G. R.; Santa Ana, C. A.; Morawski, S. G.; Fordtran, J. S. Permeability Characteristics of Human Jejunum, Ileum, Proximal Colon and Distal Colon: Results of Potential Difference Measurements and Unidirectional Fluxes. Gastroenterology 1982, 83 (4), 844—850.
40. Wang, W. Oral Protein Delivery. J. Drug Target 1996, 4 (4), 195-232.
41. Corrigan, O. I. The Biopharmaceutic Drug Classification and Drugs Administered in Extended Release (ER) Formulations. In-Vitro -In-Vivo Correlations; Young, D., Devane, J. G., Butler, J., Eds.; Plenum Press: New York, 1997; 111—128.
42. Sakr, F. M. A Programmable Drug Delivery System for Oral Administration. Int. J. Pharm. 1999, 184 (1), 131—139.
43. Singh, B. N.; Kim, K. H. Floating Drug Delivery Systems: An Approach to Oral Controlled Drug Delivery

Y

Via Gastric Retention. J. Controlled Release 2000, 63 (3), 235—259.

44. Davis, S. S.; Hardy, J. G.; Fara, J. W. Transit of Pharmaceutical Dosage Forms Through the Small Intestine. Gut 1986, 27 (8), 886—892.
45. Coupe, A. J.; Davis, S. S.; Wilding, I. R. Variation in Gastrointestinal Transit of Pharmaceutical Dosage Forms in Healthy Subjects. Pharm. Res. 1991, 8 (3), 360—364.
46. Singh, B. N. Effects of Food on Clinical Pharmacokinetics. Clin. Pharmacokinet. 1999, 37 (3), 213—255.
47. Abrahamsson, B.; Roos, K.; Sjogren, J. Investigation of Prandial Effects on Hydrophilic Matrix Tablets. Drug Dev. Ind. Pharm. 1999, 25 (6), 765—771.
48. Gai, M. N.; Ferj, S.; Garcia, E.; Seitz, C.; Thielemann, A. M.; Andonaegui, M. T. Evaluation of the In Vitro and In Vivo Performance of Two Sustained-Release Lithium Carbonate Matrix Tablets. Effect of Different Diets on The Bioavailability. Drug Dev. Ind. Pharm. 1999, 25 (2), 131—140.
49. Dressman, J. B.; Bass, P.; Ritschel, W. A.; Friend, D. R.; Rubinstein, A.; Ziv, E. Gastrointestinal Parameters that Influence Oral Medications. J. Pharm. Sci. 1993, 82 (9), 857—872.
50. Vyas, S. P.; Sood, A.; Venugopalan, P.; Mysore, N. Circadian Rhythms and Drug Delivery Design. Pharmazie 1997, 52 (11), 815—820.
51. Lemmer, B. Circadian Rhythms and Drug Delivery. J. Controlled Release 1991, 16 (1, 2), 63—74.
52. Thummel, K. E.; Kunze, K. L.; Shen, D. D. Enzyme-Catalyzed Processes of First-Pass Hepatic and Intestinal Drug Extraction. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 27 (2, 3), 99—127.
53. Ambudkar, S. V.; Dey, S.; Hrycyna, C. A.; Ramachandra, M.; Pastan, I.; Gottesman, M. M. Biochemical, Cellular, and Pharmacological Aspects of the Multidrug Transporter. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1999, 39, 361—398.
54. Fricker, G.; Drewe, J.; Huwyler, J.; Gutmann, H.; Beglinger, C. Relevance Of P-Glycoprotein for the Enteral Absorption of Cyclosporin A: In Vitro-In Vivo Correlation. Br. J. Pharmacol. 1996, 118 (7), 1841—1847.
55. Benet, L. Z.; Izumi, T.; Zhang, Y.; Silverman, J. A.; Wacher, V. J. Intestinal MDR Transport Proteins and P-450 Enzymes As Barriers to Oral Drug Delivery. J. Controlled Release 1999, 62 (1, 2), 25—31.
56. Watkins, P. B. The Barrier Function of CYP3A4 And P-Glycoprotein in the Small Bowel. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 27 (2, 3), 161—170.
57. Hunter, J.; Hirst, B. H. Intestinal Secretion of Drugs: The Role Of P-glycoprotein and Related Drug Efflux Systems in Limiting Oral Drug Absorption. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 25 (2, 3), 129—157.
58. Dresser, G. K.; Spence, J. D.; Bailey, D. G. Pharmaco kinetic-Pharmacodynamic Consequences and Clinical Relevance of Cytochrome P450 3A4 Inhibition. Clin. Pharmacokinet. 2000, 38 (1), 41—57.
59. Takada, K.; Yoshikawa, H. Oral Drug Delivery, Traditional. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery; Mathiowitz, E., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; 2, 728—742.
60. Seager, H. Drug-Delivery Products and the Zydis Fast-Dissolving Dosage Form. J. Pharm. Pharmacol. 1998, 50 (4), 375—382.
61. Sastry, S. V.; Nyshadham, J. R.; Fix, J. A. Recent Technological Advances in Oral Drug Delivery: A Review. Pharm. Sci. Technol. Today 2000, 3 (4), 138—145.
62. Bruna, E.; Leneveu, A.; Abou Chacra, M. L.; Delhotal, B.; Chauveau, C.; Ragot, F.; Flouvat, B. Acetaminophen Flashtab Formulation: Fast Disintegration and Optimal Absorption of the Active Ingredient. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1998, 25, 938—939.
63. Gutowska, A.; Bark, J. S.; Kwon, I. C.; Bae, Y. H.; Cha, Y.; Kim, S. W. Squeezing Hydrogels for Controlled Oral Drug Delivery. J. Controlled Release 1997, 48 (2), 141—148.
64. Van Bommel, E. M. G., Ed.; Gradient Matrix Systems for Controlled Delivery of Drugs, Company Thesis Duphar B. V., Weesp: The Netherlands, 1990.
65. Conte, U.; Maggi, L. A Flexible Technology for the Linear, Pulsatile and Delayed Release of Drugs, Allowing for Easy Accommodation of Difficult In Vitro Targets. J. Controlled Release 2000, 64 (1—3), 263—268.
66. Rubinstein, A.; Friend, D. R. Specific Delivery to the Gastrointestinal Tract. Polymeric Site-Specific Pharmacotherapy; Domb, A. J., Ed.; John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England, 1994; 267—313.
67. Hwang, S. J.; Park, H.; Park, K. Gastric Retentive Drug-Delivery Systems. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1998, 15 (3), 243—284.
68. Menon, A.; Ritschel, W. A.; Sakr, A. Development and Evaluation of a Monolithic Floating Dosage Form for Furosemide. J. Pharm. Sci. 1994, 83 (2), 239—245.
69. Rouge, N.; Cole, E. T.; Doelker, E.; Buri, P. Buoyancy and Drug Release Patterns of Floating Minitablets Containing Piretanide and Atenolol as Model Drugs.

Pharm. Dev. Technol. 1998, 3 (1), 73—84.

70. Gupta, P. K.; Leung, S. H. S.; Robinson, J. R. Bioadhesives/Mucoadhesives in Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Lenaerts, V., Gurny, R., Eds.; CRC Press, Inc.: Boca Raton FL, 1990; 65—92.
71. Ponchel, G.; Irache, J. M. Specific and Non-Specific Bioadhesive Particulate Systems for Oral Delivery to the Gastrointestinal Tract. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 34 (2, 3), 191—219.
72. Peppas, N. A.; Sahlin, J. J. Hydrogels As Mucoadhesive and Bioadhesive Materials: A Review. Biomaterials 1996, 17 (16), 1553—1561.
73. Nagai, T.; Machida, Y. Mucosal Adhesive Dosage Forms. Pharm. Int. 1985, 6 (1), 196—200.
74. Healey, J. N. C. Enteric Coatings and Delayed Release. Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract; Hardy, J. G., Davis, S. S., Wilson, C. G., Eds.; Ellis Horwood Ltd.: Chichester, UK, 1989; 83—96.
75. Chambliss, W. G. Enteric Coatings. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, First Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 5, 189—200.
76. Physician's Desk Reference, Medical Economics Data Production Company: Montvale, NJ, 1997.
77. Wilson C. G. Design of Formulations for Colonic Delivery Pre-Symposium Workshop on Oral Controlled Drug Delivery Feb 5 & 6 1997, Indian Chapter of the Controlled Release Society, India.
78. Leopold, C. S. Coated Dosage Forms for Colon-Specific Drug Delivery. Pharm. Sci. Technol. Today 1999, 2 (5), 197—204.
79. Steed, K. P.; Hooper, G.; Monti, N.; Benedetti, M. S.; Fornasini, G.; Wilding, I. R. The Use of Pharmacoscinti graphy to Focus the Development Strategy for a Novel 5-ASA Colon Targeting System ("TIME CLOCK®" System). J. Controlled Release 1997, 49 (2, 3), 115—122.
80. Wilson, C. G.; Bakhshaee, M.; Stevens, H. N. E.; Perkins, A. C.; Frier, M.; Blackshaw, E. P.; Binns, J. S. Evaluation of a Gastro-Resistant Pulsed Release Delivery System (Pulsincap) in Humans. Drug Deliv. 1997, 4 (3), 201—206.
81. Wilding, I. R.; Davis, S. S.; Sparrow, R. A.; Ziemniak, J. A.; Heald, D. L. Pharmacoscintigraphic Evaluation of a Modified Release (Geomatrix®) Diltiazem Formulation. J. Controlled Release 1995, 33 (1), 89—97.
82. Sangalli, M. E.; Busetti, C.; Maroni, A.; Zema, L.; Olgiati, V.; Giordano, F.; Gazzaniga, A. Chronotopic® System for Colon Specific Delivery: Pharmacokinetic and Scinti-graphic Evaluation. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1998, 25 , 858—859.
83. Kearney, A. S. Prodrugs and Targeted Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 19 (2), 225—239.
84. Taylor, M. D. Improved Passive Oral Drug Delivery Via Prodrugs. Adv. Drug Del. Rev. 1996, 19 (2), 131—148.
85. Tozer, T. N.; Friend, D. R.; McLeod, A. D. Kinetic Perspectives on Colonic Delivery. S. T. P. Pharm. Sci. 1995, 5 (1), 5—12.
86. Bundgaard, H. The Double Prodrug Concept and Its Applications. Adv. Drug Del. Rev. 1989, 3 (1), 39—65.
87. Stewart, B. H.; Amidon, G. L.; Brabec, R. K. Uptake of Prodrugs by Rat Intestinal Mucosal Cells: Mechanism and Pharmaceutical Implications. J. Pharm. Sci. 1986, 75 (10), 940—945.
88. Buckingham, L. E.; Balasubramanian, M.; Safa, A. R.; Shah, H.; Komarov, P.; Emanuele, R. M.; Coon, J. S. Reversal of Multi-Drug Resistance In Vitro by Fatty Acid-PEG-Fatty Acid Diesters. Int. J. Cancer 1996, 65 (1), 74—79.
89. Kimura, T.; Yamaguchi, T.; Usuki, K.; Kurosaki, Y.; Nakayama, T.; Fujiwara, Y.; Matsuda, Y.; Unno, K.; Suzuki, T. Colonic Mucosa-Specific "Pro-antedrugs" For Oral Treatment of Ulcerative Colitis: Design, Synthesis and Fate of Methyl 20-Glucopyranosyloxyprednisolonates. J. Controlled Release 1994, 30 (2), 125—135.
90. Bodor, N.; Murakami, T.; Wu, W. M. Soft Drugs 18. Oral and Rectal Delivery of Loteprednol Etabonate, a Novel Soft Corticosteroid, in Rats—for Safer Treatment of Gastrointestinal Inflammation. Pharm. Res. 1995, 12 (6), 869—874.
91. Otagiri, M.; Imai, T.; Fukuhara, A. Improving the Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of a Drug by Chemical Conversion to a Chimera Drug. J. Controlled Release 1999, 62 (1, 2), 223—229.
92. Krówczynski, L. Oral Extended-Release Dosage Forms: Principles of Technology. Extended Release Dosage Forms; Krówczynski, L., Ed.; CRC Press, Inc.: Boca Raton, FL, 1987; 97—158.
93. Lee, V. H. L.; Yamamoto, A.; Buur, A.; Bundgaard, H. Use of Prodrugs to Shift the Absorption Site of 5-Fluorouracil from the Upper to the Lower Region of the Gastrointestinal Tract of the Albino Rabbit. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1989, 16 , 56—57.
94. Borchardt, R. T. Optimizing Oral Absorption of Peptides Using Prodrug Strategies. J. Controlled Release 1999, 62 (1, 2), 231—238.
95. Aungst, B. J. Intestinal Permeation Enhancers. J.

Pharm. Sci. 2000, 89 (4), 429—442.

96. LeCluyse, E. L.; Sutton, S. C. In Vitro Models for Selection of Development Candidates: Permeability Studies to Define Mechanisms of Absorption Enhancement. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 23 (1—3), 163—183.
97. Eichman, J. D.; Robinson, J. R. Mechanistic Studies on Effervescent-Induced Permeability Enhancement. Pharm. Res. 1998, 15 (6), 925—930.
98. Tomita, M.; Hayashi, M.; Horie, T.; Ishizawa, T.; Awazu, S. Enhancement of Colonic Drug Absorption by the Transcellular Permeation Route. Pharm. Res. 1988, 5 (12), 786—789.
99. Ganem-Quintanar, A.; Falson-Rieg, F.; Buri, P. Contribution of Lipid Components to the Permeability Barrier of Oral Mucosa. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1997, 44 (2), 107—120.
100. Nerurkar, M. M.; Burton, P. S.; Borchardt, R. T. The Use of Surfactants to Enhance the Permeability of Peptides Through Caco-2 Cells by Inhibition of An Apically Polarized Efflux System. Pharm. Res. 1996, 13 (4), 528—534.
101. Shono, Y.; Fujita, T.; Yamamoto, A. Improvement of Intestinal Absorption of Drugs As P-glycoprotein Substrate by Various Surfactants. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 1998, 25 , 677—678.
102. Dudeja, P. K.; Anderson, K. M.; Harris, J. S.; Buckingham, L.; Coon, J. S. Reversal of Multidrug Resistance Phenotype by Surfactants: Relationship to Membrane Lipid Fluidity. Arch. Biochem. Biophys. 1995, 319 (1), 309—315.
103. Bernkop-Schnürch, A. The Use of Inhibitory Agents to Overcome the Enzymatic Barrier to Perorally Administered Therapeutic Peptides and Proteins. J. Controlled Release 1998, 52 (1), 1—16.
104. Wu, C. Y.; Benet, L. Z.; Hebert, M. F.; Gupta, S. K.; Rowland, M.; Gomez, D. Y.; Wacher, V. J. Differentiation of Absorption and First-Pass Gut and Hepatic Metabolism in Humans: Studies With Cyclosporine. Clin. Pharmacol. Ther. 1995, 58 (5), 492—497.
105. Gomez, D. Y.; Wacher, V. J.; Tomlanovich, S. J.; Hebert, M. F.; Benet, L. Z. The Effects of Ketoconazole on the Intestinal Metabolism and Bioavailability of Cyclosporine. Clin. Pharmacol. Ther. 1995, 58 (1), 15—19.
106. Ku, Y. M.; Min, D. I.; Flanigan, M. Effect of Grapefruit Juice on the Pharmacokinetics of Microemulsion Cyclosporine and Its Metabolite in Healthy Volunteers: Does the Formulation Difference Matter. J. Clin. Pharmacol. 1998, 38 (10), 959—965.
107. Soldner, A.; Christians, U.; Susanto, M.; Wacher, V. J.; Silverman, J. A.; Benet, L. Z. Grapefruit Juice Activates P-Glycoprotein-Mediated Drug Transport. Pharm. Res. 1999, 16 (4), 478—485.
108. Freeman, D. J.; Grant, D. R.; Carruthers, S. G. The Cyclosporin-Erythromycin Interaction: Impaired First-Pass Metabolism in the Pig. Br. J. Pharmacol. 1991, 103 (3), 1709—1712.
109. Lown, K.; Kolars, J.; Turgeon, K.; Merion, R.; Wrighton, S. A.; Watkins, P. B. The Erythromycin Breath Test Selectively Measures P450IIIA in Patients With Severe Liver Disease. Clin. Pharmacol. Ther. 1992, 51 (3), 229—238.
110. Walter-Sack, I.; Klotz, U. Influence of Diet and Nutritional Status on Drug Metabolism. Clin. Pharmacokinet. 1996, 31 (1), 47—64.
111. Wilkinson, G. R. The Effects of Diet, Aging and Disease-States on Presystemic Elimination and Oral Drug Bioavailability in Humans. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 27 (2, 3), 129—159.
112. Neubert, R. Ion Pair Transport Across Membranes. Pharm. Res. 1989, 6 (9), 743—747.
113. Pouton, C. W.; Charman, W. N. Oily Formulations for Administration to the Gastrointestinal Tract. Adv. Drug Del. Rev. 1997, 25 (1), 1—128.
114. Palin, K. J. Lipids and Oral Drug Delivery. Pharm. Int. 1985, 6 (1), 272—275.
115. Zhi, J.; Rakhit, A.; Patel, I. H. Effects of Dietary Fat on Drug Absorption. Clin. Pharmacol. Ther. 1995, 58 (5), 487—491.
116. Barnwell, S. G.; Burns, S. J.; Higginbottom, S.; Whelan, I.; Corness, D.; Hay, G.; Rosenberg, E.; Attwood, D. Demonstration of the Importance of Biphasic Oleic Acid Delivery for Enhancing the Bioavailability of Propranolol in Healthy Volunteers. Int. J. Pharm. 1996, 128 (1, 2), 145—154.
117. Wacher, V. J.; Silverman, J. A.; Zhang, Y.; Benet, L. Z. Role Of P-Glycoprotein and Cytochrome P450 3A in Limiting Oral Absorption of Peptides and Peptidomimetics. J. Pharm. Sci. 1998, 87 (11), 1322—1330.
118. Buckingham, L. E.; Balasubramanian, M.; Emanuele, R. M.; Clodfelter, K. E.; Coon, J. S. Comparison of Solutol HS 15, Cremophor EL and Novel Ethoxylated Fatty Acid Surfactants As Multidrug Resistance Modification Agents. Int. J. Cancer 1995, 62 (4), 436—442.
119. Bates, S. E.; Currier, S. J.; Alvarez, M.; Fojo, A. T. Modulation Of P-Glycoprotein Phosphorylation and Drug Transport by Sodium Butyrate. Biochemistry 1992, 31 (28), 6366—6372.

120. Chang, T.; Benet, L. Z.; Hebert, M. F. Effect of Water-Soluble Vitamin E on Cyclosporine Pharmacokinetics in Healthy Volunteers. Clin. Pharmacol. Ther. 1996, 59 (3), 297—303.
121. Pan, S. H.; Lopez, R. R., Jr.; Sher, L. S.; Hoffman, A. L.; Podesta, L. G.; Makowka, L.; Rosenthal, P. Enhanced Oral Cyclosporine Absorption with Water-Soluble Vitamin E Early After Liver Transplantation. Pharmacotherapy 1996, 16 (1), 59—65.
122. Khan, M. Z. I. Recent Trends and Progress in Sustained or Controlled Oral Delivery of Some Water Soluble Drugs: Morphine Salts, Diltiazem and Captopril. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21 (9), 1037—1070.
123. Perez, M. A.; Ghaly, E. S.; Marti, A. Sustained Release Phenylpropanolamine Hydrochloride from ATO 888 Matrix. P. R. Health Sci. J. 1993, 12 (4), 263—267.
124. Gai, M. N.; Isla, A.; Andonaegui, M. T.; Thielemann, A. M.; Seitz, C. Evaluation of the Effect of 3 Different Diets on the Bioavailability of 2 Sustained Release Theophylline Matrix Tablets. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 1997, 35 (12), 565—571.
125. Ishino, R.; Yoshino, H.; Hirakawa, Y.; Noda, K. Absorption of Diltiazem in Beagle Dog from Pulsatile Release Tablet. Chem. Pharm. Bull. 1992, 40 (11), 3094—3096.
126. Seta, Y.; Higuchi, F.; Otsuka, T.; Kawahara, Y.; Nishimura, K.; Okada, R.; Koike, H. Preparation and Pharmacological Evaluation of Captopril Sustained-Release Dosage Forms Using Oily Semisolid Matrix. Int. J. Pharm. 1988, 41 (3), 255—262.
127. Ritschel, W. A. Microemulsion Technology in the Reformulation of Cyclosporine: The Reason Behind the Pharmacokinetic Properties of Neoral. Clin. Transplant 1996, 10 (4), 364—373.
128. Rogers, J. A.; Anderson, K. E. The Potential of Liposomes in Oral Drug Delivery. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1998, 15 (5), 421—480.
129. Tenjarla, S. Microemulsions: An Overview and Pharmaceutical Applications. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1999, 16 (5), 461—521.
130. Bouwstra, J. A.; Hofland, H. E. J. Niosomes. Colloidal Drug Delivery Systems; Kreuter, J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 191—217.
131. Barnwell S. G. Biphasic Release Formulations for Lipophilic Acids, US Patent 5, 391, 377 Feb 21, 1995.
132. Rashid A.; Stevens H. N. E.; Binns J. S.; Mackie J. L. Controlled Release Device. U S Patent 5, 750, 143 May 12, 1998.
133. Quintanar-Guerrero, D.; Allémann, E.; Fessi, H.; Doelker, E. Applications of the Ion-Pair Concept to Hydrophilic Substances with Special Emphasis on Peptides. Pharm. Res. 1997, 14 (2), 119—127.
134. Sarciaux, J. M.; Acar, L.; Sado, P. A. Using Microemulsion Formulations for Oral Drug Delivery of Therapeutic Peptides. Int. J. Pharm. 1995, 120 (2), 127—136.
135. Allémann, E.; Leroux, J. -C.; Gurny, R. Polymeric Nano-and Microparticles for the Oral Delivery of Peptides and Peptidomimetics. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 34 (2, 3), 171—189.
136. Aungst, B. J.; Saitoh, H.; Burcham, D. L.; Huang, S. -M.; Mousa, S. A.; Hussain, M. A. Enhancement of Intestinal Absorption of Peptides and Non-Peptides. J. Controlled Release 1996, 41 (1), 19—31.
137. Rowe, C. W.; Katstra, W. E.; Palazzolo, R. D.; Giritlioglu, B.; Teung, P.; Cima, M. J. Multimechanism Oral Dosage Forms Fabricated by Three Dimensional Printing™. J. Controlled Release 2000, 66 (1), 11—17.

进一步阅读

Couvreur, P., Duchene, D., Kalles, I., Eds. Formulation of Poorly Available Drugs for Oral Administration, Editions de Santé: Paris, 1996.
de Boer, A. G., Ed. Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations and Trends Harwood Academic: Switzerland, 1994.
Gurny, R., Junginger, H. E., Peppas, N. A., Eds. Pulsatile Drug Delivery: Current Applications and Future Trends; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart Germany, 1993.
Hardy, J. G., Davis, S. S., Wilson, C. G., Eds. Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract; Ellis Horwood Ltd.: Chichester UK, 1989.
Hui, H. W.; Robinson, J. R.; Lee, V. H. L. Design and Fabrication of Oral Controlled Release Drug Delivery Systems. Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications, 2nd Ed.; Robinson, J. R., Lee, V. H. L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 373—432.
Johnson, L. R., Ed. Physiology of the Gastrointestinal Tract, 3rd Ed.; Raven Press: New York, 1994.

（周明眉 译）

药物输送：口腔黏膜途径

James C. McElnay
Carmel M. Hughes
The Queen's University of Belfast, Belfast, United Kingdom

引言

药物可以通过各种不同途径给药产生全身药理作用。最常用的给药方法是通过经口途径，药物被吞服并主要通过小肠黏膜进入体循环。虽然这种类型的给药方式常被称为口服给药（oral），但称为经口（peroral）给药更合适，因为经口给药能更精确地描述药物在口腔本身的吸收。口腔表面覆盖着黏膜，在其最不为人知的功能中有一项是作为药物的吸收部位[1]。一般而言，药物通过简单扩散穿透黏膜，并通过供应唾液腺及其管道的丰富血液，经颈静脉进入体循环。主动转运、胞饮作用和水性小孔通道在药物通过口腔黏膜的过程中所起的作用不太重要[2]。

与口服给药相比，口腔黏膜给药所具有的主要优点包括如下几个方面：

- 药物不会被胃酸破坏；
- 快速达到药物的治疗血清浓度；
- 药物进入体循环不受肝首过效应的影响。

最后一条对于首次经过肝脏时代谢多的药物很重要。这种代谢作用（由肝清除率支配）会导致药物口服剂量中进入体内药量的急剧减少，但通过口腔黏膜吸收能够避免这种情况的发生。

口腔内的两个部位已用于给药：使用舌下途径，如三硝酸甘油酯（GTN），通常以速溶片给药形式置于舌下；给药的第二个解剖部位在颊和齿龈之间。虽然第二个给药部位本身被称作颊吸收，但本章讨论了颊或口腔内所有部位的吸收。

在可用的口腔内给药制剂中，最受欢迎的剂型是经口腔黏膜吸收释放药物的速溶片，也可以是咀嚼释放药物的片剂或胶囊。后面这种方法不太成功，因为咀嚼会产生大量的唾液，增加了提前吞咽的可能性。以咀嚼胶给药方式存在同样的问题。

本章的目的是综述已出版的关于口腔药物吸收的文献。特别注意了能避免系统前代谢的颊和舌下途径给药，也考虑到了上市的经口给药剂型。在讨论药物吸收之前，由于口腔黏膜对药物从口腔进入体循环起着重要作用，先讨论其结构和血流供应。

口腔黏膜的结构和分泌

1. 黏膜上皮

口腔黏膜的主要功能是在口腔环境和深部组织之间提供一个保护性表面层。口腔具有紧密排列细胞组成的鳞状上皮。通过由深层向表面分化的过程，这些紧密排列的细胞形成一个独特层[3]。由于组织具体功能的差异，口腔黏膜不同部位的细胞其分化类型也不同。硬腭和舌的表面层角质化形成坚硬、不易变形和耐摩擦的上皮表面，但是颊上皮、口腔的底部和软腭因为没有角质化而容易膨胀。Squier 和 Rooney[4]广泛研究了角质化和非角质化口腔上皮的主要特征。除了角质化和非角质化的影响，可能造成药物吸收局部差异的第二个主要特征是黏膜的厚度。口腔不同部位的黏膜厚度不同，发现：硬腭、颊黏膜、唇黏膜和口腔底部黏膜的厚度分别为 100～120μm、500～600μm 和 100～200μm[5,6]。

2. 唾液的分泌

口腔黏膜不仅具有保护功能，而且还能维持表面的湿润，这加强了膜对药物的通透性[3]。虽然口腔黏膜分布着许多称作颊腺的微小腺体，将其分泌物注入口腔，但是口腔中的分泌物主要是由三对腺体分泌，即腮腺（位于耳下和耳前）、下腭腺（位于腭下）和舌下腺（位于舌下）。唾液腺及其管道的丰富血流由颈外动脉供应，然后流经许多分支动脉和毛细血管从颈静脉回到体循环[1]。口腔中的唾液对药物吸收非常重要，主要有两个原因：

（1）药物穿透湿润的（黏）膜比没有黏液的膜要容易得多。

（2）根据临床使用情况，药物通常以固体形式经口给药。因此，药物经过口腔黏膜吸收前，必须首先溶解在唾液中，即不能直接从片剂吸收药物。

口腔黏膜的血管系统

Stablein 和 Meyer[7]清楚地描述了口腔黏膜的血管系统和血液供应。Ciba 出版了由 Netter 描绘的口和咽的血流供应、静脉回流和淋巴回流图。该出版物也包含口腔血流供应和回流的权威性说明[8]。

口腔血液供给主要由颈外动脉来进行传输。上颌动脉是颈外动脉的主要分支，两个较小的分支是舌动脉和面动脉。舌动脉及其舌下动脉分支供给舌、口腔底部和齿龈的血液；面动脉供应唇和软腭的血液。上颌动脉供给大部分的颊、硬腭上颌和下颌龈的血液[7,9]。颈内静脉最后接收几乎所有的口和咽回流血液[8]。药物扩散透过膜后，很容易经由颈内静脉到达体循环。

Y

影响药物口腔吸收的因素

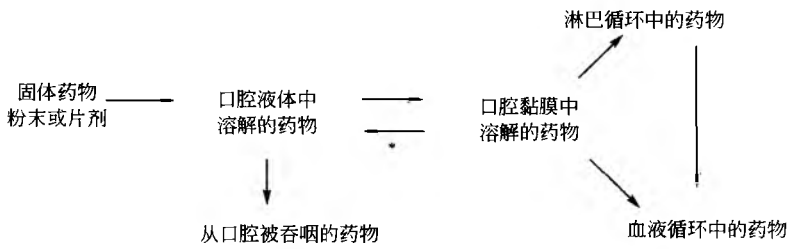
由于口腔黏膜具有丰富的血管，影响药物口腔吸收的两个主要因素是口腔黏膜对药物的通透性和药物在吸收部位表现出来的物理化学性质。

1. 口腔黏膜对药物的通透性

口腔黏膜是大分子不容易通过的脂质膜，但是，未解离的小分子比较容易通过该膜。通过作用是双向的，药物从体循环进入口腔可以通过测量唾液中药物浓度进行治疗药物的监测。Siegal[10]综述了口腔黏膜的通透性。

1.1 口腔黏膜药物吸收的机制

药物通过生物脂质膜的机制包括被动扩散、易化扩散、主动转运和胞饮作用。水溶性小分子可以通过水性小孔。药物通过口腔黏膜的主要机制，普遍存在于胃肠道的所有部位，有被动扩散，也有易化扩散，其扩散的主要是营养成分。被动扩散包含溶质从口腔中的高浓度区域转移到口腔组织内的低浓度区域。更多的扩散发生在静脉毛细血管系统，药物最终经由颈内静脉到达体循环。药物的理化性质对于被动扩散过程非常重要。虽然被动扩散无疑是主要的药物转运机制，营养成分的口腔吸收表明有载体系统（易化扩散）参与，其结果是比浓度梯度所促进的吸收更快速。与被动扩散不同，载体系统显示出立体专一性。D-葡萄糖和L-阿拉伯糖的口腔黏膜吸收就具有立体特异性[11]。同一个作者也指出，D-葡萄糖、半乳糖和3-氧-甲基-D-葡萄糖的吸收至少部分依赖于口腔液体中的钠离子。其次，D-葡萄糖的转运会被半乳糖和3-氧-甲基-D-葡萄糖抑制，表明至少存在一个共同的载体系统。类似地，Kurosaki 等[12]阐述了头孢羟氨苄（一种头孢类抗生素）的人体口腔吸收通过载体介导的机制；头孢氨苄的存在会抑制吸收，头孢氨苄和头孢羟氨苄在大鼠小肠中共用一个载体介导。



*该路径说明膜吸收的药物重新分配进入口腔液体

图1 经口给药吸收动力学的示意图[10]

1.2 口腔黏膜吸收过程中的药物膜储存

药物的口腔吸收不等同于药物进入体循环。相反，药物似乎储存在口腔黏膜中，通常被称为膜储库效应[13]。由于这种现象的存在，有人建议将“口腔分配”作为更为精确的描述药物扩散经过口腔黏膜的术语。虽然有几个作者设计了简图表示经口给药吸收动力学（图1）[1,14]，但还没有确认能与药物结合的黏膜组分。

1.3 黏膜通透性的部位差异

由于口腔不同部位的上皮在构造（角质化和非角质化）和厚度两个方面的不同。因此，药物的吸收可能由于口腔部位的不同而存在差异。Pimlott 和 Addy[15]已表明存在这种与部位相关的吸收。在六个健康志愿者的颊、上腭或舌下黏膜使用片剂后，测量硝酸异山梨酯吸收进入体循环的量。1min后检测颊和舌下部位的血清药物浓度，药物浓度逐渐增加，5min时达到峰值，然后在30min取样时间内下降。在大多数的时间范围内，舌下的血清药物浓度要高于颊（图2）。任何上腭黏膜用药的受试者血清中检测不到药物。作者得出结论，口腔黏膜的角质层可能是药物吸收的重要障碍，因为上腭的上皮是角质化的，而颊和舌下黏膜没有角质化[16]。经过舌下上皮吸收的药物可能要比颊上皮多得多，因为舌下上皮较薄并浸没在大量的唾液中。

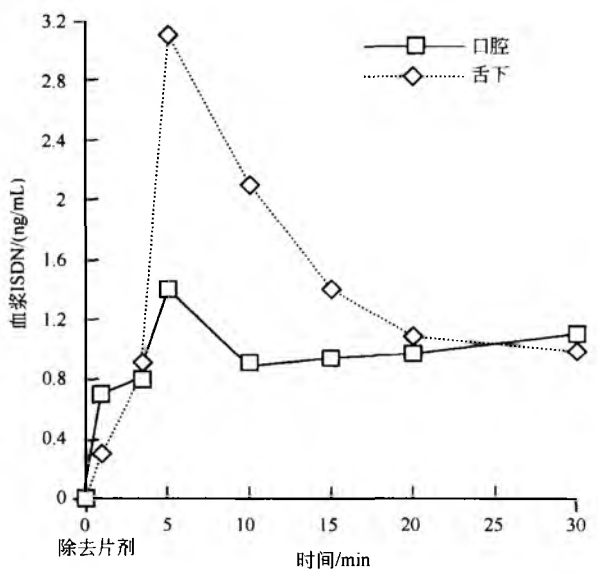


图2 颊和舌下黏膜给药硝酸异山梨酯（5mg）后在六个男性志愿受试者体内的平均血药浓度[15]

Y

Al-Furaih 等[17]的研究也表明，舌下黏膜吸收迅速。他们报道了同口服给药相比，卡托普利的舌下给药达到血浆药物浓度更迅速，并具有更加迅速的药理效应（例如，更低的心脏收缩压）。

2. 药物的理化性质

运用不同的实验技术证明细胞膜含有大量的脂质成分[18]，大多数药物通过简单的被动扩散透过细胞膜。为了透过脂质膜，药物应该是脂溶性的或是未解离形式并以溶液的状态存在。因此，药物不同的理化性质对于药物渗透经过口腔黏膜相当重要。

2.1 相对分子质量

一般而言，分子透过口腔黏膜要比离子快，小分子渗透要比大分子快。然而，这条规律并不绝对，因为相对分子质量达到 70 000 的右旋糖酐能透过角质化大鼠口腔黏膜[19]，但是辣根过氧化物酶（相对分子质量 40 000）却不能透过[20]。虽然在某些胰岛素处方中加入渗透促进剂可改善其生物利用度[22]，但大相对分子质量黏多糖，如肝素，仍不能被很好地吸收[21]。

2.2 解离度

唾液的平均 pH 为 6.4。因为未解离的药物是以脂溶扩散形式存在的，药物的 pK_a 对其透过口腔黏膜的脂质膜吸收起重要的作用。药物在特定 pH 的解离度可以用 Henderson-Hasselbalch 公式计算。公式如下：

对于酸：

$$pH = pK_a + \log_{10}\frac{[\text{解离型药物}]}{[\text{未解离型药物}]}$$

对于碱：

$$pH = pK_a + \log_{10}\frac{[\text{未解离型药物}]}{[\text{解离型药物}]}$$

使用口腔吸收模型广泛地研究了 pH 对药物从口腔吸收影响的重要性。该模型可以监测放置于口腔内的药物缓冲溶液中的药物损失量[23]。图 3 表明了 pH 对弱碱氯喹和弱酸苯巴比妥吸收的影响[24]。

然而，pH 并不完全影响药物的吸收速率和程度。例如，McElnay 等[25]发现卡托普利舌下给药，使用和不使用缓冲液的药效学参数（血压、心率和血浆肾素活性）并没有显著差异，研究结果表明 pH 的变化几乎对其没有影响。因此，有人提出卡托普利的口腔吸收涉及了除被动扩散以外的另外一种机制。

虽然许多研究阐述了解离度对药物吸收的重要性，但唾液的 pH 是相对固定的，在没有缓冲液的情况下，药物的 pK_a 对其解离状态起决定作用。同时，由于可用于吸收的表面积较大和维持解离与未解离药物平衡，在显著的吸收发生之前，只有小部分的药物是以未解离的形式出现。

2.3 脂溶性

虽然药物的未解离形式具有较高的脂溶性，但未解离药物本身具有不同的脂溶性。评估药物脂溶性的常用方法是测定其油水分配系数。如同 pH，已发现药物的口腔吸收与其油水分配系数相关。例如，Beckett 和 Moffat[26]发现了当解离度保持恒定时，一系列胺类和酸类的 *n*-庚烷/水分配系数与口腔吸收数据的相互关系。

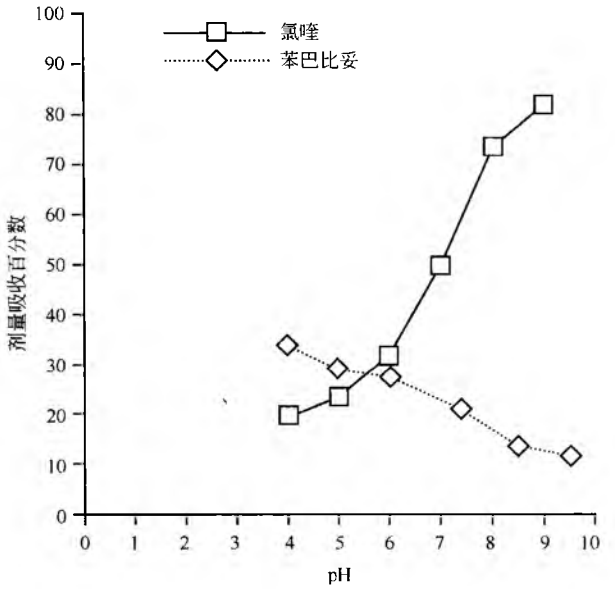


图 3 pH 对弱酸苯巴比妥和弱碱氯喹在三个健康志愿受试者口腔中吸收的影响

总之，为了透过口腔黏膜达到一定的量，药物应具有较小的相对分子质量和表现出双相溶解模式，即在水性唾液和渗透的脂质膜屏障中均可溶。大部分药物应在唾液 pH 下不解离，并且药物不应同口腔黏膜紧密结合。

口腔给药作为一种预防系统前代谢的方法

药物的生物利用度是衡量从给药部位以原型药物形式吸收进入体循环的药量占总给药量的百分比。不考虑药剂学（例如，片剂崩解困难）和药物不合适的理化性质等因素，导致口服给药生物利用度差的两个主要因素是药物进入体循环之前被胃酸破坏和被代谢酶系统修饰。系统前代谢的主要器官是肠壁、肝脏和肺[27]。这种类型的药物代谢称作首过代谢。许多药物对这些器官的酶体系具有高的亲和力，因此当药物流经这些器官时，会被高度清除。清除率高的药物（图 4）包括普萘洛尔、特布他林、左旋多巴、丙咪嗪、阿司匹林、吗啡、喷他佐辛、硝酸甘油、利多卡因、肼苯哒嗪、维拉帕米和甲基多巴。人体的主要代谢器官是肝脏。因为来自胃肠道经过门静脉的血流均需要经过肝脏才能进入体循环，肠道吸收的所有药物在到达作用部位之前必须通过肝脏。当药物进入体循环，就会分布到人体的其他部位（依赖于分布容积）。虽然清除率保持恒定，但发生分布后血浆中药物浓度降低使体内经肝脏代谢的总

药量的比例减少。肝脏只接受20%的心脏血液输出量，而接收来自于门静脉的100%血流，这也保护了器官代谢系统已吸收的药物。因此，通过选择能直接进入体循环的给药部位，可以避免系统前消除和肝脏、肺或肠壁的首过效应。因为口腔回流的血液经颈内静脉进入体循环，颊或舌下途径经口给药能提高对首过效应敏感的药物的生物利用度。但是，首过效应大并不意味着具有高清除率的药物不能够口服。只要给予足够的剂量，经过肝的首过效应后，仍能保留所需治疗效应的足够剂量。同时，由于口服剂量高，或者先前给药的血浆药物浓度可以饱和高亲和力的肝脏代谢体系，因此可以减少首过效应和增加生物利用度。对于某些药物，其代谢产物本身也具有很好的药理活性。

$$\xrightarrow{c_A} \quad 器官 \quad \xrightarrow{c_V}$$

$$清除率=\frac{c_A-c_V}{c_A}$$

图4 药物清除率的图解。清除率是衡量药物通过器官，如肝脏时从血液中除去趋势的标准。在简图中，c_A 代表动脉药物浓度，c_V 代表静脉药物浓度

颊和舌下途径给药的药物和制剂处方

虽然使用药物吸收的口腔分配模型[23]得到的数据表明许多药物可以经口腔有效地吸收，但是口腔用药后经过临床评估的药物还是不多，而且不是所有具有有效临床数据的药物都有特定可行的口腔内给药处方。心血管类药物和强镇痛类药物受到的关注最多。

1. 心血管药物

1.1 三硝酸甘油酯（GTN）

使用这种血管扩张剂治疗心绞痛的历史已超过100年了。尽管花费了很多努力寻找替代品，但现在许多临床医生仍认为它是最有效的治疗药物。三硝酸甘油酯也用于治疗充血性心衰。该药能从口腔快速吸收，大部分能绕过肝脏。由于谷胱甘肽酶[28]的作用，肝脏对有机硝酸酯类药物有很强的代谢能力。GTN的舌下给药最适合缓和心绞痛急性发作的疼痛，因其起效快，疗效确切，并且费用低廉[29]。该药的传统制剂是舌下给药的速溶片。但是，这种制剂有两个主要的缺陷：

（1）片剂崩解和溶出所花的时间个体差异大，可能导致作用延缓和作用效果不同。

（2）GTN片剂在出厂的包装启封仅8周就会失去主要效力，应该丢弃，因为暴露在潮湿的环境和空气中加速了硝酸酯的分解。热也会加速药物的降解。

为了克服以前舌下片制剂的主要问题，现在广泛使用GTN定量气雾剂。气雾剂通常每次喷含0.4mg的GTN。厂商建议使用时将1～2单位剂量喷在口腔黏膜上（最好在舌下），然后闭合嘴巴。

生产Suscard口腔片的厂商Pharmax采用了一个略有不同的方法。与传统的300μg、500μg和600μg舌下片不同，Pharmax片剂包含1mg、2mg、3mg或5mg的GTN，并放置在上唇和门牙的一侧牙龈之间。在溶出的过程中，片剂软化黏附到牙龈上，然后以均匀递增的方式继续溶出。由于是缓释剂型，使用时患者不应在口腔内移动片剂而增加其溶出速率。如果偶然被吞服应更换片剂，连续使用时药片应交替放置于口腔两侧。除了作为有效的心绞痛预防药，该处方已表明对充血性心衰同样有效[30]。

1.2 硝酸异山梨酯

这种硝酸酯也可舌下服用，化学性质更稳定的药物适合那些不频繁需要硝酸酯的患者。硝酸异山梨酯比GTN作用时间更持久。硝酸异山梨酯的活性依赖于活性代谢产物的产生，其中最重要的是异山梨醇5-单硝酸酯。异山梨醇单硝酸酯也可用于预防心绞痛，虽然还未明确其具有超越硝酸异山梨酯的优势[31]。一般认为，二硝酸基酯的活性也要比GTN长久。例如，Kattus等[32]发现同GTN 1h的缓解作用相比，硝酸异山梨酯舌下给药能抑制心绞痛2.5～3h。咀嚼片（口腔吸收）和缓释胶囊（肠吸收）具有相同的生物利用度“暗示颊或舌下吸收不能绕开首过效应，系统前代谢发生在口腔黏膜，口腔吸收不如想象的有效，或者硝酸异山梨酯被吞服，没有被口腔黏膜吸收。口腔和肠内给药后的代谢物结构说明口腔吸收缓慢，并且硝酸异山梨酯因溶解在唾液中被吞咽”[33]。目前，有关口腔吸收途径的知识支持这种理论。舌下和颊剂型的主要优势可能是片剂在唾液中的快速崩解和溶出。目前的知识建议使用口腔黏膜给药治疗心绞痛的急性发作，使用缓释处方进行预防。Iga和Ogawa[34]阐述了与口服给药相比，GTN和硝酸异山梨酯的缓释口腔黏膜给药均能增加狗给药后的生物利用度。许多硝酸异山梨酯制剂可用于颊或舌下途径给药，通常的剂量为5mg或10mg。虽然有咀嚼剂，更传统的快速崩解片仍然居多。因为咀嚼能增加唾液分泌，为了防止药物被过早地吞咽，传统的片剂也许比较适合。之所以优先选择舌下而不是颊给药，是因为健康志愿者通过舌下途径用药血浆浓度更高[15]（图2）。

1.3 硝苯地平

过去，硝苯地平的舌下给药大部分克服了治疗高血压紧急状况时出现的给药困难[35]。舌下给药起效迅速，它也用于治疗心绞痛的急性发作。目前，有两种类型的硝苯地平制剂都主要用于口服途径。缓释制剂只能口服，但包含硝苯地平溶液的速释胶囊以前是用于经口给药。生产商在说明书上声明，“硝苯地平不应该用于治疗心绞痛的急性发作”，因为硝苯地平同血压的巨大变化和反射性心搏过速有关[36]。

1.4 卡托普利

两项研究表明，卡托普利舌下给药可以治疗严重高血

压[37, 38]。治疗的高血压患者表现出收缩压和舒张压的显著下降，2～5min起效和10min达到峰效应[37]。卡托普利口服给药需要1～2h达到最大治疗效应[39]，因此不适用于治疗高血压危象。Al-Furaih等[17]报道与口服给药相比，卡托普利舌下给药（紧接着进行血药浓度监测）可以更快达到有效血药浓度，药理效应起效快（如较低的收缩压），如图5所示。

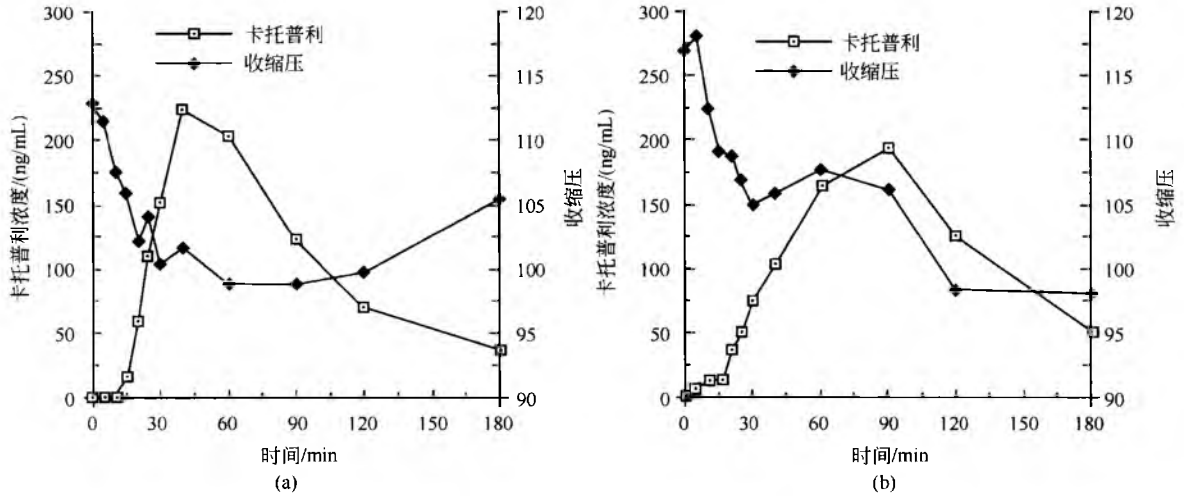


图5 舌下（a）和口服（b）给药25mg的卡托普利后收缩压和血浆原型药物浓度的经时关系[17]

Iscan等[40]对比了卡托普利特定处方的口腔黏膜生物黏附片和普通片剂的许多参数。口腔黏膜处方以平滑的血药浓度曲线和长久的作用持续时间实现了卡托普利的控制释放。但是通过口腔黏膜途径的生物利用度是40%，而口服给药的生物利用度是65%。原因是肠黏膜比口腔黏膜更易渗透，因此需要进一步研究以改善其生物利用度。

2. 镇痛药

2.1 丁丙诺啡

同其他的酚鸦片类镇痛药相似，丁丙诺啡口服表现出较低的效力，表明存在很高的首过效应，对大鼠的研究表明确实如此[27]。静脉注射研究估计丁丙诺啡的清除率为85%，而口服的系统利用度认为是15%或更少[41]。虽然药物的口腔吸收率很低，不如非胃肠道给药治疗急性疼痛有用，但该药经口给药比口服给药具有更好的生物利用度[42]。如果需要，可以给予患者丁丙诺啡的注射剂以达到快速解除疼痛，然后舌下给药维持镇痛效果。将其制成含有200μg或400μg盐酸丁丙诺啡的舌下片可用于治疗中等或严重程度的疼痛。

2.2 吗啡

吗啡虽然不常使用颊或舌下途径给药，许多研究表明，吗啡从口腔吸收可产生有效的止痛效应，并且这些途径可能提供合适的替代注射的给药方式[43]。临床研究显示，吗啡口腔黏膜给药的生物利用度要比肌内注射高40%～50%，由于口腔黏膜给药，吗啡的血浆浓度下降较缓慢，吗啡口腔黏膜给药可能会增加镇痛效果[44]。Anlar等[45]将硫酸吗啡生物黏附片用于六名健康志愿者，结果发现吸收了30%的活性药物，而硫酸吗啡溶液的绝对生物利用度只有23%[46]。Christrup等[47]发现硫酸吗啡的酯前药具有较强的亲脂性，经口给药的吸收比母体药物的更好。

2.3 凯托米酮

凯托米酮是一种已在斯堪的纳维亚和其他欧洲地区投入临床使用的麻醉性镇痛药。已有报道说，凯托米酮口服给药的人体平均生物利用度大概为35%，但是舌下或颊途径[48]给药可以大幅度地提高生物利用度。迄今为止，体外研究集中于使用凯托米酮前药（大多数是酯类），研究结果显示，与硫酸吗啡类似，前者可以极大地改善口腔黏膜的渗透[49,50]。

2.4 氟比洛芬

研究显示，氟比洛芬这种非甾体抗炎药可能对于牙周疾病的治疗有效。控制pH可影响药物的吸收量；增加pH可使药物的吸收量减少，因此导致较差的局部效应[51]。Gonzalez-Younes等[52]报道了该药与口腔黏膜组织的紧密结合。

3. 多肽药物

口腔黏膜已被认为是一种避免多肽药物注射给药的用药途径，虽然渗透性很低，影响了其应用价值[22]。然而，修改药物处方可以获得更大的成功。剂型中添加渗透促进剂，通过改善上皮渗透和（或）影响药物的性质，可以最大程度地改善生物利用度[53]。迄今为止，已经进行了很多的动物试验。

3.1 胰岛素

使用胰岛素降低血糖的传统给药途径是皮下注射。由于胃酸和酶对胰岛素的降解作用，口服制剂是不合适的。

但是使用口腔黏膜制剂进行的动物研究则更为成功。Ritschel 等[54]将胰岛素的不同 pH 溶液用于 Beagle 犬。pH 为 7.5 时可达到最大的生物利用度（22.3%），添加渗透促进剂（胆盐类）不能进一步提高该值。大鼠实验研究发现，不使用渗透促进剂，在一定的 pH 范围内，胰岛素溶液不表现出任何显著的降血糖的效应，这表明胰岛素不能有效地通过口腔黏膜途径吸收[55]。

3.2 布舍瑞林

这种促黄体激素释放激素已用于治疗子宫内膜异位症和激素依赖肿瘤。给药方式包括注射、鼻腔喷雾和皮下植入。对猪给药的实验表明，甘氨脱氧胆酸盐（一种渗透促进剂）能提高布舍瑞林口腔黏膜给药的生物利用度近 5 倍[56]。

3.3 α-干扰素

α-干扰素具有广谱抗病毒和抗增殖活性，用于治疗 HIV 和特定的肝炎。如同其他的多肽药物，人们已试图寻找方法改善 α-干扰素的口腔黏膜给药以避免胃肠道的降解和首过代谢。Stewar 等[57]指出对大鼠使用一系列的渗透促进剂，尤其当使用牛磺胆酸钠时，可提高生物利用度。如同多肽类药物的所有研究，将其用于人体时应谨慎。

4. 其他药物

4.1 尼古丁

咀嚼烟草吸收尼古丁的方式已广泛使用了许多年。如果没有吸入烟雾，口腔黏膜也是使用烟斗和吸雪茄者吸收尼古丁的途径。尼古丁替代治疗已用于戒烟。咀嚼胶剂型的尼古丁没有致癌风险，并且是戒烟策略的有用部分[58]。最近开发了其舌下片（2mg），临床试验表明，该处方是一种安全的给药形式[59]，患者每 1～2h 使用一片。

4.2 锌

锭剂形式的葡萄糖酸锌已上市用于治疗普通感冒，虽然研究方法学差异可以部分解释已报道的矛盾结果，但其对治疗感冒症状是否有效还没有定论[60,61]。

4.3 咪达唑仑

咪达唑仑溶液的口腔黏膜给药吸收迅速，并产生 EEG 读数的变化[62]。作者建议这或许能作为地西泮直肠给药紧急治疗癫痫发作的一种替代方式。

结论

口腔提供了一个供血丰富的黏膜给药部位。口腔黏膜上皮的不同部位在构造（角质化和非角质化）和厚度上不同，这些不同导致了药物渗透的部位差异。虽然大分子药物可以通过吸收屏障（脂质膜），但小分子药物的吸收更加迅速且重现性好。未解离（脂溶）形式药物的主要吸收机制是被动扩散。营养成分的吸收也存在易化扩散。在进入血流之前，药物常常储存在口腔黏膜中或同口腔黏膜结合。口腔回流的血液直接进入体循环没有肝脏的首过效应。因为避免了首过代谢，提高了某些药物相对于口服给药的生物利用度。为了确保从口腔吸收，以固体剂型给药的药物必须表现出双相溶解性，即在唾液和口腔脂质膜分别可溶。目前，经口给药可行的主要药物分为血管扩张剂和强镇痛药。虽然口腔黏膜给药可行处方的主要剂型是速崩片，新方法还包括黏膜黏附片和喷雾剂处方。目前，许多有关口腔吸收的机制和特点的理论是从志愿者研究而不是从患者的临床药理学研究中获得的。该研究将药物缓冲溶液放置在口腔中（口腔黏膜吸收模型）。上述方法提供了有关新药和已存在药物生物利用度的有用信息。口腔黏膜给药途径比起口服途径的主要优势是可以避免药物在胃中的降解，避免首过代谢和迅速达到治疗血药浓度。很明显，目前临床上只有少数药物具有这些优势。然而，随着制剂类型的近期开发，如黏膜黏附剂和使用多肽作为药物，其数量在将来会大大增加。口腔黏膜途径给药的主要缺点是药物可能产生不必要的口腔局部效应，如味道差或可能吸收缓慢，在充分吸收前被吞咽等。口腔黏膜途径，像直肠和鼻腔内途径一样，过去大多被临床医生和制药公司所忽视，现在无疑值得进行进一步的深入研究。

参考文献

1. Harris, D.; Robinson, J. R. Drug Delivery Via the Mucous Membranes of the Oral Cavity. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 1－10.
2. Beckett, A. H.; Hossie, R. D. Buccal Absorption of Drugs. Handbuch der Experimentellen Pharmakologie; Gillette, T. R., Ackermann, H. S., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1971; 28, 1－60.
3. Feldman, R. S.; Szabó, G. Comparative Microanatomy of Skin and Oral Mucosa. Textbook of Oral Biology, 1st Ed.; Shaw, J. H., Sweeney, E. A., Cappuccino, C. C., Meller, S. M., Eds.; W. B. Saunders: Philadelphia, 1978; 166－167.
4. Squier, C. A.; Rooney, L. The Permeability of Keratinized and Nonkeratinized Oral Epithelium to Lanthanum In Vivo. J. Ultrastruct. Res. 1976, 54, 286－295.
5. Schroeder, H. E. Classification of Stratified Epithelia. Differentiation of Human Oral Stratified Epithelia; Karger: Basel, 1981; 33.
6. Chen, S. Y.; Squier, C. A. The Ultrastructure of the Oral Epithelium. The Structure and Function of Oral Mucosa; Meyer, J., Squier, C. A., Gerson, S. J., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1984; 7－30.
7. Stablein, M. J.; Meyer, J. The Vascular System and Blood Supply. The Structure and Function of Oral Muco-

sa; Meyer, J., Squier, C. A., Gerson, S. J., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1984; 237—256.
8. Netter, F. H. Upper Digestive Tract. The Digestive System, Part 1: The Ciba Collection of Medical Illustrations; Oppenheimer, E., Ed.; Ciba: New York, 1959; 3, 24—28.
9. Boyer, C. C.; Neptune, C. M. Patterns of Blood Supply to Teeth and Adjacent Tissue. J. Dent. Res. 1962, 41, 158—171.
10. Siegal, I. A. Permeability of the Oral Mucosa. The Structure and Function of Oral Mucosa; Meyer, J., Squier, C. A., Gerson, S. J., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1984; 95—108.
11. Manning, A. S.; Evered, D. F. The Absorption of Sugars from the Human Buccal Cavity. Clin. Sci. Mol. Med. 1976, 51, 127—132.
12. Kurosaki, Y.; Nishimura, H.; Terao, K.; Nakayama, T.; Kimura, T. Existence of a Specialised Absorption Mechanism for Cefadroxil, an Aminocaphalosporin Antibiotic, in the Human Oral Cavity. Int. J. Pharm. 1992, 82, 165—169.
13. Ho, H. F. H. Biophysical Kinetic Modeling of Buccal Absorption. Adv. Drug Del. Rev. 1993, 12, 61—97.
14. Henry, J. A.; Ohashi, K.; Wadsworth, J.; Turner, P. Drug Recovery Following Buccal Absorption of Propranolol. Br. J. Clin. Pharmacol. 1980, 10, 61—65.
15. Pimlott, S. J.; Addy, M. AStudy into the Mucosal Absorption of Isosorbide Dinitrate at Different Intra-Oral Sites. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1985, 59, 145—148.
16. Squier, C. A.; Johnson, N. W.; Hopps, R. M. The Human Oral Mucosa: Innervation of the Oral Mucosa. Human Oral Mucosa; Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1975; 63.
17. Al-Furaih, T. A.; McElnay, J. C.; Elborn, J. S.; Rusk, R.; Scott, M. G.; McMahon, J.; Nicholls, D. P. SublingualCaptopril—A Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1991, 40, 393—398.
18. Gurr, M. I.; Harwood, J. L. Lipids in Cellular Structure: Membrane Structure. Lipid Biochemistry; Chapman and Hall: London, 1991; 265—281.
19. Squier, C. A.; Johnston, N. W. Permeability of Oral Mucosa. Br. Med. Bull. 1975, 31, 169—175.
20. Squier, C. A. The Permeability of Keratinized and Nonkeratinized Oral Epithelium to Horseradish Peroxidase. J. Ultrastruct. Res. 1973, 43, 160—177.
21. Fuller, H. L. Effect of Sublingual Heparin on Lipemia Clearing and on Recurrence of Myocardial Infarction. Angiology 1960, 11, 200—206.
22. Merkle, H. P.; Wolany, G. Buccal Delivery for Peptide Drugs. J. Controlled Release 1992, 21, 155—164.
23. Beckett, A. H.; Triggs, E. F. Buccal Absorption of Basic Drugs and its Application as an In Vivo Model of Passive Drug Transfer through Lipid Membranes. J. Pharm. Pharmacol. 1967, 19, 31S—41S.
24. McElnay, J. C.; Sidahmed, A. M.; D'Arcy, P. F. Experimental Modeling of Drug Absorption and Drug Absorption Interactions. Int. J. Pharm. 1986, 31, 107—117.
25. McElnay, J. C.; Al-Furaih, T. A.; Hughes, C. M.; Scott, M. G.; Elborn, J. S.; Nicholls, D. P. The Effect of pH on the Buccal and Sublingual Absorption of Captopril. Eur. J. Clin. Pharmacol. 1995, 48, 373—379.
26. Beckett, A. H.; Moffat, A. C. Correlation of Partition Coefficients in n-Heptane-Aqueous Systems with Buccal Absorption Data for a Series of Amines and Acids. J. Pharm. Pharmacol. 1969, 21, 144S—150S.
27. Brewster, D.; Humphrey, M. J.; McLeavy, M. A. The Systemic Bioavailability of Buprenorphine by Various Routes of Administration. J. Pharm. Pharmacol. 1981, 33, 500—506.
28. Needleman, P.; Hunter, F. E. The Transformation of Glyceryl Trinitrate and other Nitrates by Glutathione-Organic Nitrate Reductase. Mol. Pharmacol. 1965, 1, 77—86.
29. Goldstein, R. E.; Rosing, D. R.; Redwood, D. R.; Beiser, F. D.; Epstein, S. E. Clinical and Circulatory Effects of Isosorbide Dinitrate Comparison with Nitroglycerin. Circulation 1971, 43, 629—639.
30. Sanghera, S. S.; Goldberg, A. A. J.; Parson, D. F. Buccal Nitroglycerin in Elderly Patients with Congestive Heart Failure. Practitioner 1985, 229, 1054—1055.
31. British National Formulary No. 40, British Medical Association and the Pharmaceutical Society of Great Britain. The Pharmaceutical Press: London, 2000.
32. Kattus, A. A.; Alvaro, A. B.; Zohman, L. R.; Coulson, A. Comparison of Placebo, Nitroglycerin, and Isosorbide Dinitrate for Effectiveness of Relief of Angina and Duration of Action. Chest 1979, 75, 17—21.
33. Galeazzi, R. L.; Platzer, R.; Reuteman, G. Plasma Isosorbide Dinitrate Concentrations and Effect after Chewable and High-Dose Sustained-Release Formulations. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 1983, 21, 393—397.
34. Iga, K.; Ogawa, Y. Sustained-Release Buccal Dosage Forms for Nitroglycerin and Isosorbide Dinitrate: Increased Bioavailability and Extended Time of Absorption when Administered to Dogs. J. Controlled Release

1997, 49, 105—113.
35. Mathur, M. M.; Chaturvedi, M. K.; Rai, R. R.; Das, Khatri T. Role of Nifedipine Sublingually in Accelerated Hypertension. J. Assoc. Phys. India 1986, 34, 137—138.
36. A., B. P. I. Compendium of Data Sheets and Summaries of Product Characteristics 1999—2000; Datapharm Publications: London, 1999.
37. Tschollar, W.; Belz, G. G. Sublingual Captopril in Hypertensive Crisis. Lancet 1985, 2, 34—35.
38. Hauger-Klevene, J. H. Comparison of Sublingual Captopril and Nifedipine. Lancet 1986, 1, 219.
39. Ohman, K. P.; Kagedal, B.; Larsson, R.; Karlberg, B. E. Pharmacokinetics of Captopril and its Effects on Blood Pressure during Acute and Chronic Administration and in Relation to Food Intake. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1985, 7 (Suppl. 1), 20—24.
40. Iscan, Y. Y.; Capan, Y.; Senel, S.; Sahin, M. F.; Kes, S.; Duchene, D.; Hincal, A. A. Formulation and In Vitro/In Vivo Evaluation of Buccal Bioadhesive Captopril Tablets. STP Pharma. Sci. 1998, 8, 357—363.
41. Bullingham, R. E. S.; McQuay, H. J.; Moore, R. A.; Bennett, M. R. D. Buprenorphine Kinetics. Clin. Pharmacol. Ther. 1980, 28, 667—672.
42. Cassidy, J. P.; Landzert, N. M.; Quadros, E. Controlled Buccal Delivery of Buprenorphine. J. Controlled Release 1993, 25, 21—29.
43. Whitman, H. H. Sublingual Morphine: A Novel Route of Narcotic Administration. Am. J. Nursing 1984, 84, 939.
44. Bell, M. D. D.; Murray, G. R.; Mishra, P.; Calvey, T. N.; Weldon, B. D.; Williams, N. E. Buccal Morphine—A New Route for Analgesia. Lancet 1985, 1, 71—73.
45. Anlar, S.; Capan, Y.; Guven, O.; Gogus, A.; Dalkara, T.; Hincal, A. A. Formulation and In Vitro-In Vivo Evaluation of Buccoadhesive Morphine Sulphate Tablets. Pharm. Res. 1994, 11, 231—236.
46. Hoskin, P. J.; Hanks, G. W.; Aheme, G. W.; Chapman, D.; Littleton, P.; Filshie, J. The Bioavailability and Pharmacokinetics of Morphine after Intravenous, Oral and Buccal Administration in Healthy Volunteers. Br. J. Clin. Pharmacol. 1989, 27, 499—505.
47. Christrup, L. L.; Christensen, C. B.; Friis, G. J.; Jorgensen, A. Improvement of Buccal Delivery of Morphine Using the Prodrug Approach. Int. J. Pharm. 1997, 154, 157—165.
48. Hansen, L. B.; Christrup, L. L.; Bundgaard, H. Ketobemidone Prodrugs for Buccal Delivery. Acta Pharma. Nord. 1991, 3, 77—82.
49. Hansen, L. B.; Christrup, L. L.; Bundgaard, H. Enhanced Delivery of Ketobemidone through Porcine Buccal Mucosa In Vitro via more Lipophilic Ester Prodrugs. Int. J. Pharm. 1992, 88, 237—242.
50. Hansen, L. B.; Jorgensen, A.; Rasmussen, S. N.; Christrup, L. L.; Bundgaard, H. Buccal Absorption of Ketobemidone and Various Ester Prodrugs in the Rat. Int. J. Pharm. 1992, 88, 243—250.
51. Barsuhn, C. L.; Olanoff, L. S.; Gleason, D. D.; Adkins, E. L.; Ho, N. F. H. Human Buccal Absorption of Flurbiprofen. Clin. Pharmacol. Ther. 1988, 44, 225—231.
52. Gonzalez-Younes, I.; Wagner, J. G.; Gaines, D. A.; Ferry, J. J.; Hageman, J. M. Absorption of Flurbiprofen through Human Buccal Mucosa. J. Pharm. Sci. 1991, 80, 820—823.
53. Hoogstraate, A. J.; Bodde, H. E. Methods for Assessing the Buccal Mucosa as a Route of Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1993, 12, 99—125.
54. Ritschel, W. A.; Ritschel, G. B.; Forusz, H.; Kraeling, M. Buccal Absorption of Insulin in the Dog. Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol. 1989, 63, 53—67.
55. Oh, C. K.; Ritschel, W. A. Biopharmaceutic Aspects of Buccal Absorption of Insulin. Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1990, 12, 205—212.
56. Hoogstraate, A. J.; Verhoef, J. C.; Pijpers, A.; van Leengoed, L. A. M. G.; Verheijden, J. H. M.; Junginger, H. E.; Bodde, H. E. In Vivo Buccal Delivery of the Peptide Drug Buserelin with Glycodeoxycholate as an Absorption Enhancer in Pigs. Pharm. Res. 1996, 13, 1233—1237.
57. Steward, A.; Bayley, D. L.; Howes, C. The Effect of Enhancers on the Buccal Absorption of Hybrid (BDBB) α-Interferon. Int. J. Pharm. 1994, 104, 145—149.
58. Henningfield, J. E. Nicotine Medications for Smoking Cessation. N. Engl. J. Med. 1995, 333, 1196—1203.
59. Wallstrom, M.; Sand, L.; Nilsson, F.; Hirsch, J. M. The Long-Term Effect of Nicotine on the Oral Mucosa. Addiction 1999, 94, 417—423.
60. Mossad, S. B.; Macknin, M. L.; Medendorp, S. V.; Mason, P. Zinc Gluconate Lozenges for Treating the Common Cold—A Randomized Double-blind, Placebo-Controlled Study. Ann. Intern. Med. 1996, 125, 81—89.
61. Macknin, ML.; Piedmonte, M.; Calendine, C.; Janosky, J.; Wald, E. Zinc Gluconate Lozenges for Treating the Common Cold in Children—A Randomized Controlled Trial. JAMA 1998, 279, 1962—1967.
62. Scott, R. C.; Besag, F. M. C.; Boyd, S. G.; Berry, D.; Neville, B. G. R. Buccal Absorption of Midazolam: Pharmacokinetics and EEG Pharmacodynamics. Epilepsia 1998, 39, 290—294.

Y

进一步阅读

Chidambaran, N.; Srivatsava, A. K. Buccal Drug Delivery Systems. Drug Dev. Indust. Pharm. 1995, 21, 1009—1036.

Gandhi, R. B.; Robinson, J. R. Oral Cavity as a Site for Bioadhesive Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1994, 13, 43—74.

Harris, D.; Robinson, J. R. Drug Delivery via the Mucous Membranes of the Oral Cavity. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 1—10.

Meyer, J.; Squier, C. A.; Gerson, S. J. The Structure and Function of the Oral Mucosa; Pergamon Press: Oxford, 1984.

Rathbone, M. J.; Tucker, I. G. Mechanisms, Barriers and Pathways of Oral Mucosal Drug Permeation. Adv. Drug Del. Rev. 1993, 12, 41—60.

Rathbone, M. J.; Drummond, B. K.; Tucker, I. G. The Oral Cavity as a Site for Systemic Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1994, 13, 1—22.

（陈 昂 译）

药物输送：脉冲系统

Till Bussemer
Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Germany
Roland A. Bodmeier
Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

引言

在历史上，缓释剂型得到了发展，即在很长一段时间里能持续释放药物的剂型。该剂型有很多优点，如作用部位的药物浓度恒定进而使“峰谷”现象最小化，减少服药的频率，提高患者的依从性。近几年来，人们对脉冲释药系统的兴趣倍增。理想的脉冲系统在规定的时滞内不释放药物，之后就能快速完全地释放药物（图 1 中的 A）。有两个描述脉冲式释药的术语可供选择，延迟释药或 S 型（曲线式）释药。除了单脉冲系统，多脉冲系统在继发脉冲中释放药物[1]。应用脉冲释药系统可以满足时辰药理学的需要，也可以实现药物在胃肠道内特定部位的释药，如结肠。

脉冲给药系统可以分为定位给药系统和时控给药系统。定位给药系统的药物释放依赖于胃肠道的环境，如 pH、该部位存在的酶、胃肠道的压力。相反，时控给药系统却独立于生物体环境，药物的释放仅由给药系统控制。时控脉冲系统主要通过含药核释药，该含药核外包裹着控释层。该核如同储库，使药物在时滞后释放，不受环境（如水、酸性 pH 和酶）的破坏。包衣材料可以被溶蚀或溶解、裂开，或者在规定的时间内改变其渗透性。胶囊状的药核还有控释囊塞。本章详述了脉冲式给药的各种方法。

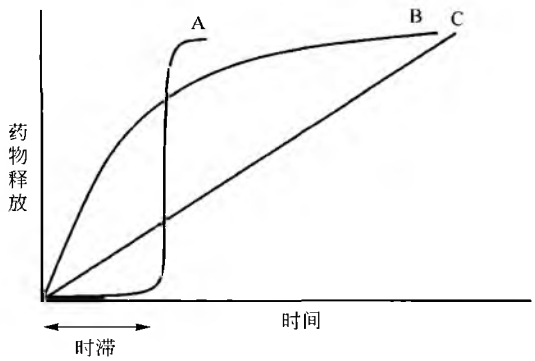


图 1　药物释放曲线。A. 脉冲给药；B 和 C 为传统的缓释给药

药物作用的时辰药理学

众所周知，一些疾病和身体机能依赖于生理节律。据最近的报道，“生物钟”的遗传控制位点在交叉上核[2]。

许多激素，如肾素、醛固酮、皮质醇每天都有明显的波动[3]。在病症初始及发展到一定程度时，都可以观察到生理节律，这些疾病包括支气管哮喘、心肌梗塞、心绞痛、风湿病、溃疡和高血压[4]。

哮喘病在清晨的发病率增加，4 时达到最大值[5]（图 2）。茶碱的控释剂型能维持恒定血药浓度，将其用于治疗该病效果不理想。所以，治疗方案中要考虑到白天（病情）的变化，药效应更强。脉冲给药就可以实现上述要求，晚上睡觉时服用该药后在第二天早晨释放药物。

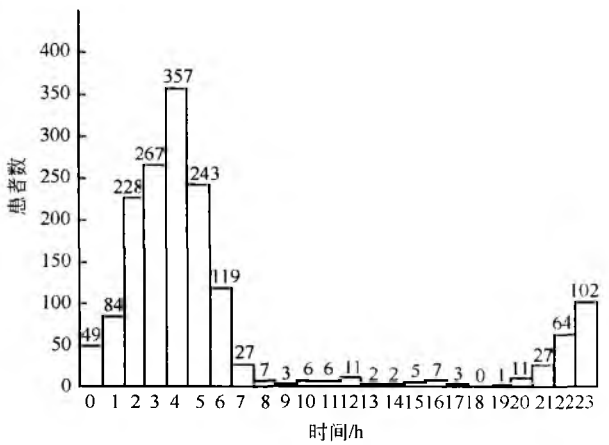


图 2　1600 名患者在 24h 内哮喘的发病数[5]

胃的 pH 和酸性分泌物也能观察到有生理节律性。除了使用法莫替丁（一种 H_2 拮抗剂）持续输液治疗的患者外，胃的 pH 也呈现出日内波动，范围在 pH7 到 pH2～3[6]。所以，用滴注或普通的控释给药系统给药后可以得到恒定的血药浓度，但不能得到恒定的药理作用。用雷尼替丁治疗的患者，其胃中的 pH 也观察到类似的效果[7]。另外一个需要依据时辰药理学的例子是对患者术后疼痛治疗的研究。上午 9 时和下午 8 时是白天疼痛的峰值，这时需要进行止疼[8]。

时辰药理学通过两种途径影响药物的治疗，或者是每天药效不同，或者是药动学不同[9]。人们对许多药物的药动学和时辰药理学进行研究，这些药物有止痛药、抗肿瘤药、抗生素、精神类药物、局部麻醉剂、抗哮喘药物、抗惊厥药物、β-受体阻断剂[10]。β-受体阻断剂可以减少早晨局部缺血的发生[11]。

所有的生理机能包括药物的吸收、分布和排泄依赖于生理节律。例如，胃内固体的排空时间早晨快于下午[12]。

Y

人们发现，在早晨胃肠道的血液灌注量较高，这可能会影响通过被动扩散吸收的药物[13,14]。尤其是亲脂类药物，如果在早上服用，到达最大血药浓度的时间 t_{max} 会减少；最大血药浓度值 c_{max} 会增加。

这些发现导致了对时控治疗方案的需求，也就是说药物在正确的时间，在作用部位，有恰当的量。这可以通过脉冲给药系统来实现。

溶蚀或溶解性包衣系统

大多数的脉冲给药系统是储库型的，有阻隔层包衣。在特定的时滞后，阻隔层会溶解或溶蚀，之后药物就会快速地从储库核中释放出来。总的来说，药物释放前的时滞可以通过包衣层的厚度来加以控制。

加压包衣片剂可以实现各种时滞，加压包衣阻隔层由水溶性聚合物、羟丙基甲基纤维素和水不溶性聚合物（如不同比例的乙基纤维素、丙烯酸树脂或聚乳酸）混合而成[15]。释放介质渗透入包衣层导致片剂的崩解，也就是说，增加水溶性聚合物的比例，崩解前的时滞会减少。

Chronotopic®系统（图 3）由含药物和羟丙基甲基纤维素层的片剂核组成，外层包肠溶衣[16~19]。药物释放前的时滞可以通过羟丙基甲基纤维素层的厚度和黏度来控制。似橡胶的羟丙基甲基纤维素层溶蚀或溶解后，就能观察到明显的脉冲。为了避免药物释放的延迟，应该限制羟丙基甲基纤维素层的厚度和黏度级别[20]。水溶性不好的药物使用该系统效果最佳。水溶性较好的药物会在完全溶蚀前通过羟丙基甲基纤维素层的溶胀而扩散出来。除了有核片剂，该原理也用于软、硬明胶胶囊[21]。包衣层的质量高达 20%，它是由水溶性的羟丙基甲基纤维素（Methocel® E50）喷到胶囊上形成的。相同包衣的胶囊剂的时滞长于片剂的。和包衣片剂相比，这主要是由于胶囊缺乏崩解力。包衣片剂的一个问题是在溶解试验中，溶胀聚合物会从片剂的边缘磨损，这将会引起溶蚀过程缩短。

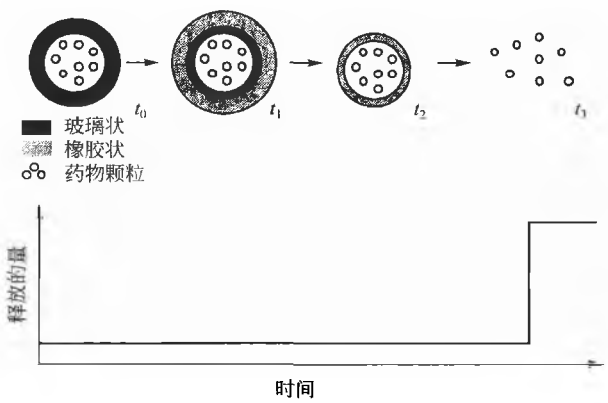


图 3 Chronotopic® 系统[18]

下面的例子描述了这种释药系统，一个非渗透性、水不溶性（阻隔）层将该系统的几个侧面与释放介质隔开，因此药物只能从系统的一个侧面释放出来。

Lippold 和 Möckel 提出了该系统的模型，它是由 3 层羟丙基甲基纤维素组成的片剂，从外层到内层依次是速释层、不含药的中间层和含药的内层（药物的第二个脉冲剂量）[22]。一种特殊设计的装置是一个大小合适的密封金属模具，仅允许药物的一个侧面与释放介质接触。亲水性的成型片会持续溶蚀，首先从速释层释放药物，接着的一段时间无药物释放（这段时间是由中间层的厚度以及不含药物的羟丙基甲基纤维素层的溶蚀时间控制的），然后是来自内层的第二次药物释放脉冲。释放的过程是这样的，开始时释放速度快速增加（第一脉冲，最顶层的速释剂量），接着是时滞，然后是再次释放药物阶段（第二脉冲），随着羟丙基甲基纤维素层的厚度从 1.44mm 增加到 2.87mm，时滞的时间也从 2.5h 增加到 6.5h。羟丙基甲基纤维素经溶胀形成似凝胶层，从而使第二脉冲引起的释放速率减少。这个系统被认为是口腔片剂的模型，因为固体剂型从胃转运到小肠的时间有限。口腔片有望克服这个限制。

为了不使用金属模具，用于体外试验的剂型仍需要 3 面包衣。

双脉冲的释药模式是一种 3 层片剂，其中有 2 个含药层用不含药物的胶凝聚合物阻隔层将其隔开[23,24]。该三层片（图 4）的三面用非渗透性的乙基纤维素包衣（如图 4 中的 d 层）。与释放介质接触后，顶层（a）起始剂量的药物快速从片剂的未包衣面释放出来。凝胶隔离层（b）被底层（c）膨胀的崩解剂破坏后，就产生来自底层的第二脉冲。超级崩解剂是交联的聚乙烯吡咯烷酮（Polyplasdone® XL）和羧甲基淀粉钠（Primojel®）。通过选择不同的凝胶材料来控制时滞，如不同的相对分子质量的羟丙基甲基纤维素，但是时滞发生后，药物溶出阶段持续相当长的时间，这是由于 c 层崩解剂溶胀作用消失引起的；药物在阻隔层缓慢的胶凝过程中，c 层的崩解剂会慢慢吸收水分[25]。在体内试验中，服药 1h 以及 4.5～5h 后血药中发现有两个明显的峰，这和体外试验结果一致（快速释药，40min 后第二剂量释药）。但未解释第二剂量的时滞在体内、外的偏离现象。该剂型的主要缺点是包括包衣过程在内的生产工艺复杂。在包衣步骤中，片剂的某一面，即释药面不要包衣；该片剂是用一种特殊设计的片剂容器用手工包衣制得。现选用高黏度的羟丙基甲基纤维素层，使用挤压包衣技术对该剂型进行改进，替代了原来的喷雾包衣法[26]。在去离子

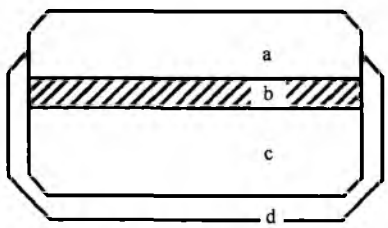


图 4 三层脉冲系统[25]

水中试验时，双氯酚酸钠的时滞范围是 2～3h；布洛芬在 pH 为 7.5 的介质中，时滞是 2～10h。尽管这两个系统的组成一样，但布洛芬包衣片的时滞较长。作者认为，这是由于使用了不同释放介质引起的。

挤压包衣片是用改良的旋转压片机制得的，该机器使用了一种特殊的中空冲压部件，首先形成片剂的内层，然后用相同的冲模再压上外层（片剂里还含有片剂）[27]。

另一种溶蚀型控制时滞的药物剂型有一个含药核，该核被置于由羟丙基纤维素组成的扁平、中空圆柱体中[28]。片剂的表面用非渗透性的聚合物包衣，如乙烯乙酸乙烯共聚物（图 5）。该递释系统由手工制备：在片剂上打一个孔后得到中空的母体物，将内部含药核再放入该孔，手工将该系统的两个表面包衣。由于大批量的生产使得该制备工艺相当复杂，由于使用了未批准的聚合物，并将苯用作包衣溶剂，都限制了这个系统的应用。6h 和 11h 的时滞既可以实现时滞后快速释药（药核中使用微晶纤维素或乳糖），也可以实现恒速释药（药核中有羟丙基纤维素）。时滞伴随着圆柱形基质厚度的增加而增加。含有乳糖的药核可以形成内部的渗透压，使药核外的包衣快速分离。所以，药物在羟丙基纤维素层完全溶蚀前就被释放出来。另外，含微晶纤维素药核没有渗透作用，包衣层不会分离，时滞就比较长。所以，包衣层的完全溶蚀对药物的释放很关键。

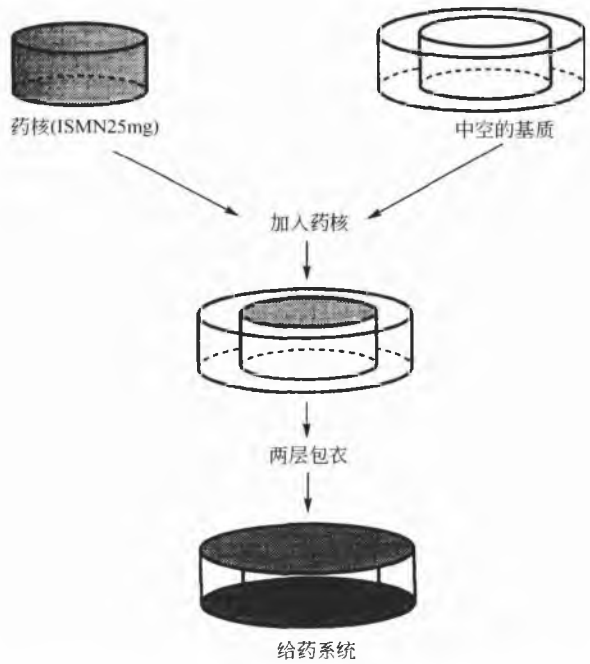


图 5　溶蚀系统中有中空的圆柱，表面包衣

时钟系统（Time-Clock®）的脂质隔离层含有巴西棕榈蜡和蜂蜡，由于加入了表面活性剂（聚氧乙烯山梨酸醇单甘油酸酯），所以在水溶性介质中会溶蚀或乳化[29]。时滞随着包衣材料厚度的增加而增加，与环境的 pH 无关。就时滞而言，用 γ-闪烁扫描法评价体内肠包衣时钟系统的结果与体外试验的预期数据一致[30]。当体外试验溶出介质的黏度上升为 120cP（1cP=10^{-3}Pa·s，下同）时，时滞就会延长，和体内试验的数据是一样的。该系统的优势是生产简单，不需要特殊的设备。但是，建立在脂质体基础上的控释系统，体内结果可能差异较大（如食物作用）。

改变膜渗透性的系统

Eudragit® RS 或 RL［化学名，聚（丙烯酸乙酯，甲基丙烯酸甲酯，甲基丙烯酸氯化三甲胺基乙酯）］的渗透性和吸水性会受到释放介质中不同反离子的影响[31]。人们发现，在释放介质中加入丁二酸、乙酸、戊二酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、茶碱，药物就会很快地从丙烯酸树脂 RS 包衣的小球中释放出来[32]。渗透性的增加既可以用薄膜水化程度的增高来解释，也可以认为是（水化后）自由体积增加。

通过离子交换，可以得到一些 S 型或脉冲型释药模式的给药系统。S 型的释药系统（SRS）由含药核小球组成，含有药物和丁二酸，用丙烯酸树脂 RS 包衣[33]。时滞是由水通过包衣材料进入的速度控制，水溶解丁二酸和核内的药物，酸溶液增加药物的渗透性，这主要是聚合物膜与季铵盐相互作用进而引起水合作用。

在类似的给药系统中，茶碱和乙酸钠作为改变渗透性的盐，包在糖衣小丸上，然后用 Eudragit® RS30D 进行包衣[34]，时滞随着外层膜的增厚而增加。释药速度的斜率和厚度无关，但它受给药系统盐量的影响。

该系统的释药过程是以渗透性的改变为基础，并极其依赖药物的物理化学性质以及与膜的相互作用。该脉冲式释药可以实现一些特殊处方的特殊药物分子的脉冲释药，但不能推广到所有药物。

可破裂系统

另一类储库式脉冲给药系统使用的是可破裂的包衣层，与前面章节中提到的溶胀/溶蚀层相反。系统内压力引起（药核）周围聚合物层被破坏，之后，药物就从片剂或胶囊的药核中释放出来。使包衣层破裂所需的力能通过产气的泡腾剂、增加内部渗透压的赋形剂或膨胀剂来实现，如纤维素醚、聚多糖或超级崩解剂。

有泡腾剂（如柠檬酸、碳酸氢钠）的含药片剂用乙基纤维素包衣。当水渗透入药核后产生二氧化碳，引起包衣层破裂，导致脉冲释药[35]。破裂的产生依赖于包衣层的力学特性：韧性高的包衣层，如丙烯酸树脂 RS，其延展性高，弹性低，泡腾作用的结果是在特定时滞后该层破裂，但仅留下一条小的裂缝。因此，药物释放时间延长，时滞后不立刻释药；使用机械力较弱、无柔韧性的包衣层，如乙基纤维素，用 20%（w/w）的 DBS 增塑剂（图 6），药物的释放呈重现性的 S 型，随着包衣层厚度的增加，药物的时滞也增加。此外，微晶纤维素的崩解性也有利于包衣层的破裂，它也常用作填充剂。

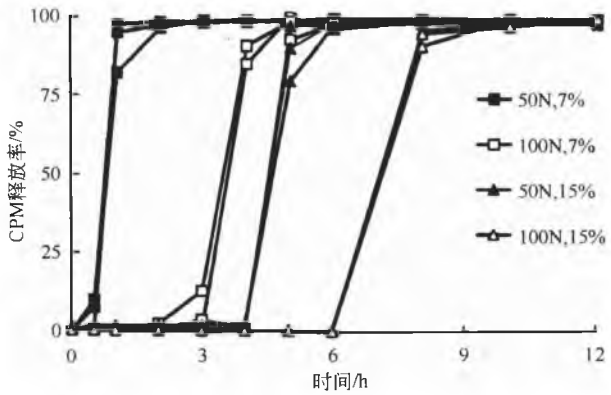


图 6 以泡腾药核为基础的脉冲释药系统-药物释放/时滞［包衣层，EC/DBS，药核，30%（w/w）泡腾剂，微晶纤维素］受包衣层厚度（7%和 15%，w/w）和硬度（50N 和 100N）的影响[35]

1976 年，Baker 提出可破裂剂型的作用机理是渗透压[36]。含有药物和崩解剂的片剂用乙基纤维素或醋酸纤维素包衣，包衣层破裂、药物释放之前的时间被定义为药核保护时间。

另一种给药系统以片剂中的膨胀核为基础，用疏水性、亲水性聚合物的组合物进行包衣[37]。水不溶的亲水性聚合物，如果胶钙或藻酸钙分散在包衣中，用于控制水的渗透压。含有膨胀剂的药核除了有水不溶的聚合物外，还有增加硬度的微晶纤维素和包衣层破裂后实现快速崩解的崩解剂。

软硬胶囊也可以用膨胀层包衣，外面再用可破裂聚合物包衣（图 7）[38]。超级崩解剂，如 Ac-Di-Sol（交联羧甲基纤维素钠）或低取代的羟丙基纤维素（L-HPC）用作膨胀剂，它使包衣层破裂后快速释放药物。乙基纤维素或醋酸纤维素形成外部的可破裂聚合物层。外层聚合物的组成控制着时滞。水溶性的聚合物，如羟丙基甲基纤维素，能增加渗透性从而减少时滞。这种胶囊型系统的优势是不论液体还是固体药物都能释药。

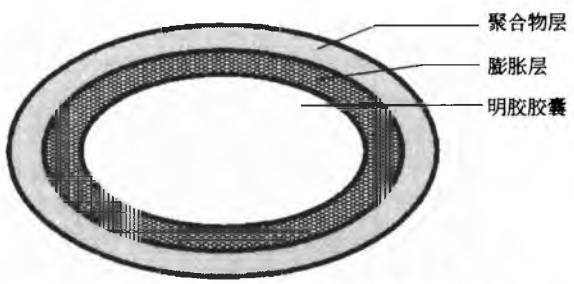


图 7 以胶囊为基础的破裂型脉冲释药系统[38]

上述的给药系统都是单剂量的系统，单一剂量的外层包衣的破裂原理和单剂量系统的相同。

和单剂量相比，多微粒的释药系统（如小丸）有很多优势[39]。这些优点有重现性好，通常在胃里的滞留时间短，没有突释，将不同组成或不同释药模式的微粒混合的灵活性好。但是，由于赋形剂占较高的比例（如含糖药核），所以多微粒系统的载药量低。

时控释药系统是一种多微粒系统，药物在内核上，然后是适合厚度（至少 180μm）的膨胀层（如羟丙基纤维素）和不溶性的聚合物顶层（如乙基纤维素）[40~43]。水进入时，膨胀层就会膨胀，使该层破裂，然后快速释药。这种释药方式与环境的 pH 以及药物溶解性无关。随着包衣层增厚、滑石粉和亲脂性增塑剂量的增加，时滞也随之增加；随着渗透性的增加，释放速率也增加。在时控释药系统的体外试验中，其时滞为 3h；体内试验发现，3h 后有第一个血药浓度峰，最大的血药浓度峰在 5h 后[44]出现。

Amidon 和 Leesman 开发了一个由渗透和膨胀共同作用的给药系统[45]。这个控制渗透的系统由一个药核组成，含有渗透活性物质、膨胀剂和药物。氯化钠和山梨酸醇用作渗透剂，羧甲基纤维素钠用作膨胀剂。该药核用水不溶、半渗透性的聚合物包衣，如醋酸纤维素。当不溶性包衣层破裂后，时间参数 T_p 可用以下方程计算：

$$T_p = \frac{V_e^* + V_d}{A \cdot a \cdot L_p \cdot \Delta\pi}$$

式中：T_p 为包衣层破裂前的时间（时滞）；V_e^* 为使包衣层破裂的片剂膨胀体积；V_d 为核内可替换的体积；A 为包衣层的表面积；a 为一个常数；L_p 为包衣层水的渗透率；$\Delta\pi$ 为膜两侧的渗透压差。常数 a 表达如下：

$$a = \frac{\Delta r^* / r_0}{e^*}$$

式中：Δr^* 为临界半径的增加值；r_0 为单剂量的初始半径；e^* 为临界张力。这个模型建立在如下的假设中：单剂量的片剂或小丸是球形，包衣层的厚度和渗透压差恒定，使包衣层破裂的压力和张力不改变。事实上，包衣层的力学性质、渗透压的改变以及包衣层的缺陷都必须考虑。

Chen 提出了一个含核系统，含有渗透压发生剂（氯化钠）和药物，用水不溶性的、可渗透的膜包衣[46]。包衣层含有不同类型的丙烯酸-甲基丙烯酸共聚物（丙烯酸树脂 NE30D，丙烯酸树脂 RS30D）和硬脂酸镁，它用于减少膜对水的渗透性，所以长时滞也可以使用较薄的包衣层。否则，必须使用更难破裂的厚包衣层。

类似给药系统的时滞是由肠溶性聚合物在不溶性聚合物膜外（如乙基纤维素）包衣引起的。肠溶性聚合物，如甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物（丙烯酸树脂 R）或羟丙基甲基纤维素（HPMCP），在胃酸性 pH 条件下不溶解，但在小肠中溶解，所以弱化了包衣层的作用，在预设的时滞后就破裂。使用膨胀剂 Explotab®（淀粉甘醇酸酯）可以实现药核进水后的膨胀。外层包衣中含有水不溶性物质（硬脂酸镁）可以使包衣变薄，渗透性减弱，破裂性增加[47]。

含有渗透活性物质和药物的小丸药核用醋酸纤维素和半渗透性聚合物包衣，该半渗透聚合物能透过水，但药物

不能透过[48,49]。随着包衣层的增厚、滑石粉或亲脂类增塑剂在包衣层上用量的增加，时滞也随之增加；随着渗透活性物质浓度的增加，释放速度也增加。加入有促渗作用的盐，如氯化钠，对于实现脉冲释药很必要；否则会延长释药时滞。这主要是由于药核膨胀程度低，裂缝小，包衣不能完全破裂。

Heng 等研制了一种多层小丸，含有中性的小丸核，内层是药物层，中间是 HPMC 层（膨胀层），外层是不溶性的扩散层，由丙烯酸树脂 RS 组成。在 HPMC 层加入氯化钠可以减少膨胀的速度，延迟小丸的崩解[50]。这个现象未预料到，因为盐会增加水的摄入，增加渗透作用。破裂前时间的延长可以解释为是由氯化钠和 HPMC 竞争吸收水分引起的。

现已建立了一种计算渗透型球状胶囊崩解时间的方法，该崩解时间依赖于起始半径、包衣层厚度、内容物的渗透压、胶囊的材料[51]。该方法假设球形核随着水的进入而增大，引起包衣层拉长，直至产生一个足以使其破裂的表面张力。下列方程表示体积增加的速率：

$$\frac{dV}{dt} = D\frac{A}{l}(\Pi_0 - p)$$

式中：dV/dt 为体积增加速率；D 为通过包衣层的渗透度；A 为球形面积；l 为包衣层的厚度；Π_0 为通过包衣层的渗透压；p 为球状胶囊的内压。

无因次值 $N_1 = \frac{Y}{M}$ 和 $N_2 = \frac{\Pi_0 r_0}{2Ml_0}$ 依据球面的体积和弹性材料的 Hook 定律而得到（Y 是球面崩解的表面张力，M 是 Yonger 弹性系数，r_0 是起始半径，l_0 是包衣层的起始厚度）。N_1 决定了球面崩解的半径，它也是材料特性［即张力（Y）］和 Young 系数［即硬度值（M）］的比值，N_2 决定了起始膨胀速率。可以得到这样的结论，无因次值崩解时间 t_b^* 随着 N_2 的增加而增加，当 $N_2 > 2N_1$，崩解时间 t_b 的变化与 l_0 成比例；但当 $N_2 < 2N_1$ 时，t_b^* 受到其他因素的影响，渗透性的增加和包衣层厚度的减少（同时伴有包衣层性质的改变）会使这个扩大的系统水进入更快，从而使时滞缩短。

胶囊状系统

现已开发了一些单剂量的胶囊型脉冲制剂，大多由不溶性的胶囊体组成，其中含有药物和囊塞，该囊塞用于时滞阶段阻止药物的释放。囊塞的去除机理包括溶解、溶蚀，通过膨胀或渗透压将囊塞推出胶囊外。

Pulsincap® 系统由水不溶的、聚氯乙烯包衣的硬明胶胶囊组成，里面是药物处方[52,53]。半胶囊的开口处用膨胀的水凝胶封闭。囊塞与释放介质或胃肠液接触后就会膨胀，在时滞后弹出胶囊外，然后快速释放胶囊内容物（图 8）。药物释放前的时滞由囊塞的尺寸和位置来控制。为了保证药物的快速释放，尤其是水不溶性的药物，在处方中要加入泡腾剂、崩解剂。动物和健康志愿者的研究证明了该药物处方的耐受性（如无胃肠道刺激）[54]。为了解决单剂量药物的不同肠滞留时间问题，Pulsincap® 系统用肠溶性材料包衣，该材料到达小肠高 pH 区域时才会溶解。由于肠道的转运时间变化较小，所以能更精密控制药物经胃后的释放[55,56]。Pulsincap® 系统的缺点使得相关的商业投入减少。其缺点有生产工艺复杂，重现性差等，塞子的材料（以交联聚乙二醇为基础的聚合物）未许可用于制药工业。

已研究了类似 Pulsincap® 系统的两种囊塞——膨胀交联塞和溶蚀型塞子（图 9）。片剂状的囊塞可以通过挤压水溶性、膨胀的聚合物而制得（如 HPMC、PVA 或聚氧乙烯）[57]。聚合物和胃肠液接触后，就会快速膨胀，形成凝胶，然后转变成溶胶，接着是溶蚀阶段。可以将膨胀型聚合物与可溶的低相对分子质量的赋形剂联合使用，如用来减少时滞的乳糖[58]。总的来说，可通过选择溶蚀型聚合物的相对分子质量和囊塞的厚度来调整时滞。

在囊塞中直接加入酶可以实现囊塞的降解[59]。例如，含有果胶（天然的多糖）的囊塞可以被果胶酶降解，系统时滞可以通过酶降解果胶的比例来进行控制（图 10）。

将单硬脂酸甘油酯（Gelucive®）、单油酸甘油酯（Myverol®）饱和液溶解后，用凝结法制得挤压型和溶蚀型囊塞[57]。

另一种方法是利用内部渗透压将塞子从不溶性胶囊里推出，然后在时滞发生后再释放药物。Port® 系统由半渗透性膜（醋酸纤维素）包衣的明胶胶囊组成，它用渗透性材料填充，末端用水不溶性的塞子（如 Gelucire 脂质）[60]。和水溶性介质接触后，水会通过半渗透膜扩散，引起较高的内部压力，在特定时滞后囊塞被弹出，这主要是通过半渗透膜包衣层的厚度来控制。该系统也做过人体实验研究，体内外的时滞相关性较好[61]。额外的速释和缓释剂量存在于可溶性明胶囊帽和不溶性的囊身中。

在 Chronset® 系统中（图 11），药物释放的动力是半渗透载体中的渗透活性层，经过一段时间间隔后推动囊帽从不渗透的载体中释放出来[62]。通常，在胶囊状的制剂中会出现不能完全释放的问题，但本剂型中囊体底部的扩散层能确保药物的完全释放。

更复杂的是水中不溶解的高频胶囊，只有人体外部施加高频信号它才释药[63,64]。高频胶囊用于评价药物在消化道特定区域的吸收。最近也有报道说，类似胶囊通过振荡磁场激活，释放活性化合物或在胃肠道定位释放放射性标记物[65]。

一般说来，大规模生产上述胶囊状的脉冲释药系统很复杂，需要特殊的设备和一些生产步骤将各元件组合起来。

Y

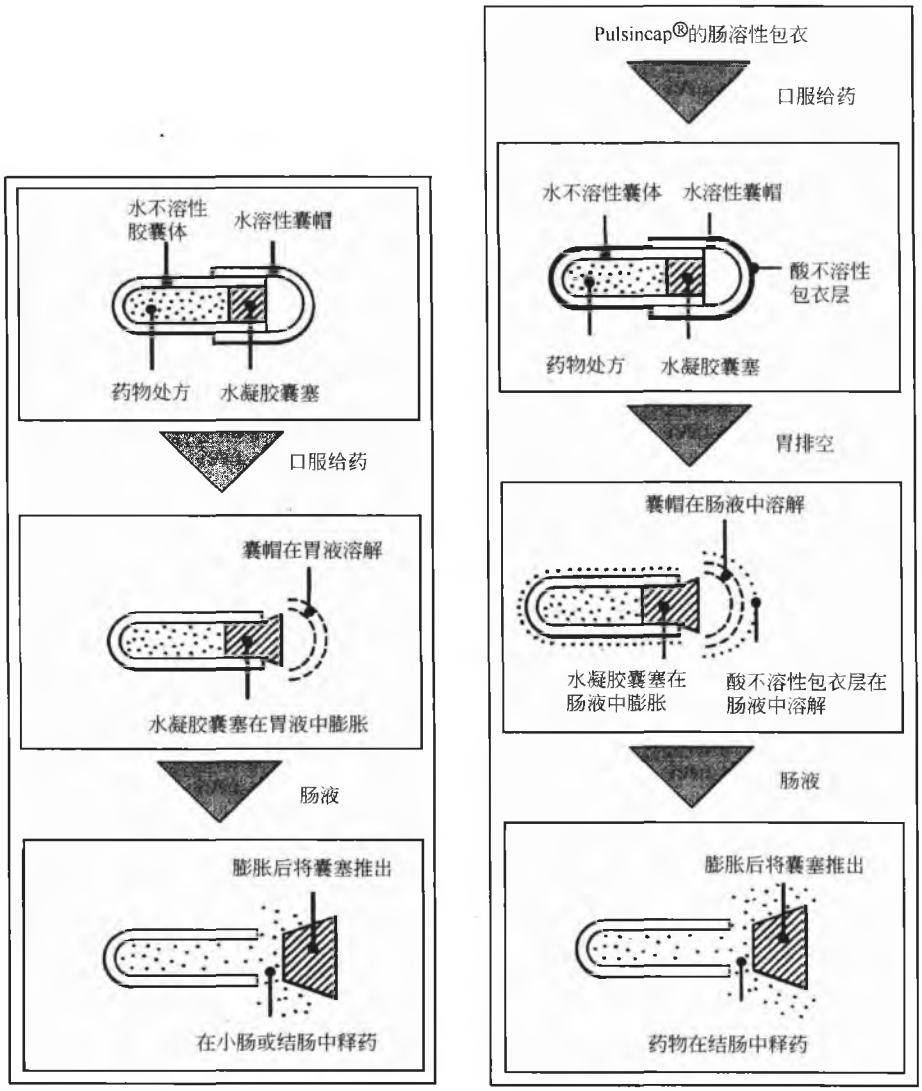


图 8 Pulsincap® 系统[51]

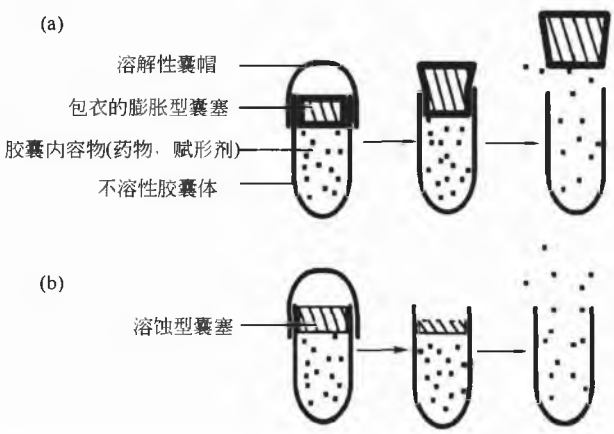


图 9 胶囊型的脉冲释药系统。(a) 由非渗透性的囊体和膨胀型、不溶性的包衣囊塞组成；(b) 由非渗透性的囊体和溶蚀型囊塞组成

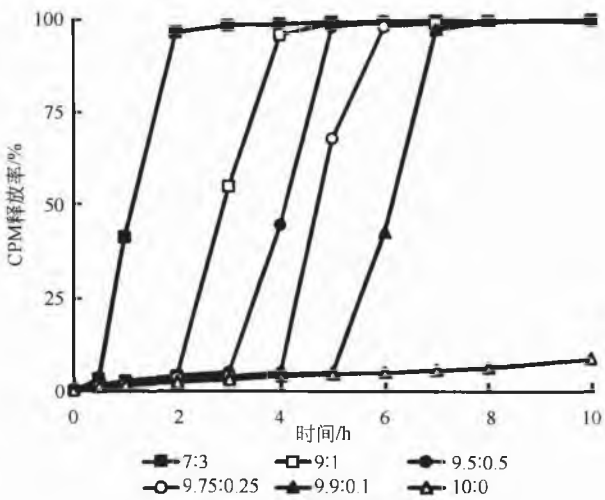


图 10 马来酸氯苯那敏的释放是囊塞中果胶/酶比例的函数

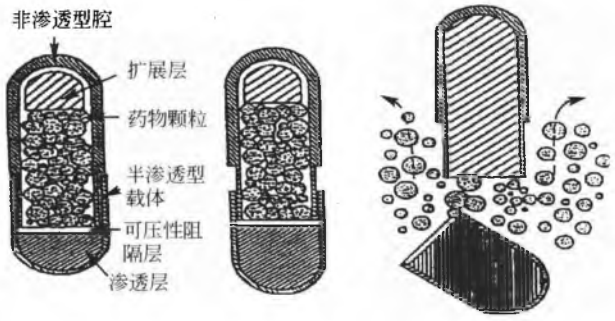


图 11 Chronset® 系统[61]

总结

使用脉冲给药应当考虑药物的时辰药理学特点，较高的首过效应，夜间需要一定的剂量或在胃肠道特定部位的吸收。最近几年，人们开发了很多有趣的口服的单剂量系统和多剂量系统。但是，许多给药系统仅供学术研究用，因为生产工艺复杂，很多赋形剂未被批准药用。多数系统体外试验结果相当好，但是通常未经体内测试。目前，主要的挑战是理解生物环境对脉冲给药系统释药的影响，以便开发出一种简单的给药系统，系统应使用已批准药用的赋形剂，并且体内外相关性较好。

参 考 文 献

1. Peppas, N. A. Fundamentals on pH-and Temperature-Sensitive Delivery Systems. In Pulsatile Drug Delivery, 1st Ed.; Gurny, R., Junginger, H. E., Peppas, N. A., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, 1993; 41—56.
2. Lemmer, B. Genetic Aspects of Chronobiologic Rhythms in Cardiovascular Disease. In From Molecule to Men; Zehender, M., Breithardt, G., Just, H., Eds.; Darmstadt: Germany, 2000; 201—213.
3. Breimer, D. D. The Need for Rate and Time Programming in Future Drug Delivery. In Pulsatile Drug Delivery, 1st Ed.; Gurny, R., Junginger, H. E., Peppas, N. A., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, 1993; 25—40.
4. Lemmer, B. Chronopharmacokinetics: Implications for drug treatment. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51, 887—890.
5. Dethlefsen, U.; Repges, R. Ein neues Therapieprinzip bei nächtlichem. Asthma Med. Klin. 1985, 80 (2), 44—47.
6. Merki, H. S.; Witzel, L.; Kaufman, D.; Kempf, M.; Neumann, J.; Rohmel, J.; Walt, R. P. Continuous intravenous infusions of famotidine maintain high intragastric pH in duodenal ulcer. Gut 1988, 29 (4), 453—457.
7. Sanders, W.; Buchi, K. N.; Moore, J. G.; Bishop, A. L. Pharmacodynamics of intravenous ranitidine after bolus and continuous infusion in patients with healed duodenal ulcers. Clin. Pharmacol. Ther. 1989, 46 (5), 545—551.
8. Burns, J. W.; Hodsman, N. B. A.; McLintock, T. T. C.; Gillies, G. W. A.; Kenny, G. N. C.; McArdle, C. S. The influence of patient characteristics on the requirements for postoperative analgesia. A reassessment using patient-controlled analgesia. Anaesthesia 1989, 44 (1), 2—6.
9. Lemmer, B. Why Are So Many Biological Systems Periodic? In Pulsatile Drug Delivery, 1st Ed.; Gurny, R., Junginger, H. E., Peppas, N. A., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, 1993; 11—24.
10. Ritschel, W. A.; Forusz, H. Chronopharmacology: A review of drugs studies. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 1994, 16 (1), 57—75.
11. Lemmer, B. Chronopharmacological aspects for the prevention of acute coronary syndromes. Eur. Heart J. 1998, 19 (Suppl. C), C50—C58.
12. Goo, R. H.; Moore, J. G.; Greenberg, E.; Alazraki, N. P. Circadian variation in gastric emptying of meals in humans. Gastroenterology 1987, 93 (3), 515—518.
13. Lemmer, B.; Nold, G. Circadian changes in estimated hepatic blood flow in healthy subjects. Br. J. Clin. Pharmacol. 1991, 32 (5), 627—629.
14. Lemmer, B. Chronopharmacological aspects of PK/PD modeling. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 1997, 35 (10), 458—464.
15. Korsatko-Wabnegg, B.; Korsatko, W.; Wegleitner, K. Delayed-Release Pharmaceutical Preparation. US Patent 5, 151, 273, September 29, 1992.
16. Gazzaniga, A.; Busetti, C.; Moro, L.; Crimella, T.; Sangalli, M. E.; Giordano, F. Evaluation of Low Viscosity HPMC as Retarding Coating Material in the Preparation of a Time-Based Oral Colon Specific Delivery System. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 1995; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1995; 242.
17. Gazzaniga, A.; Iamartino, P.; Maffione, G.; Sangalli, M. E. Oral delayed-release system for colonic specific delivery. Int. J. Pharm. 1994, 108, 77—83.
18. Gazzaniga, A.; Sangalli, M. E.; Giordano, F. Oral chronotopic drug delivery systems: Achievement of time and/or site specificity. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1994, 40 (4), 246—250.
19. Poli, S.; Busetti, C.; Moro, L. Oral Pharmaceutical Composition for Specific Colon Delivery. EP Patent 0 572 942, December 8, 1993.
20. Maroni, A.; Sangalli, M. E.; Busetti, C.; Zema, L.; Giordano, F.; Gazzaniga, A. Chronotopic System, Influence of Various HPMC Grades as Coating Agents on the Release Behaviour. Proc. 2nd World Meeting APGI/

APV, Paris, France, 1998; Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik: Mainz, 1998; 337.

21. Maroni, A.; Sangalli, M. E.; Cerea, M.; Busetti, C.; Giordano, F.; Gazzaniga, A. Low Viscosity HPMC Coating of Soft and Hard Gelatin Capsules for Delayed and Colonic Release: Preliminary Investigations on Process Parameters and In Vitro Release Performances. Proceed. Int. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, MA, 1999; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1999.
22. Lippold, B. C.; Möckel, J. E. Pulsatile release from laminated methylhydroxypropyl cellulose matrices with KCl as model drug. Acta Pharm. Technol. 1990, 36 (2), 97—98.
23. Conte, U.; Manna, A. L.; Colombo, P. Tablet for Pharmaceutical Use Able to Release Active Substances at Successive Times. US Patent 4, 865, 849, September 12, 1989.
24. Conte, U.; Colombo, P.; Manna, A. L.; Gazzaniga, A. A new ibuprofen pulsed release oral dosage form. Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15 (14—16), 2583—2596.
25. Conte, U.; Giunchedi, P.; Maggi, L.; Sangalli, M. E.; Gazzaniga, A.; Colombo, P.; Manna, A. L. Ibuprofen delayed release dosage forms: A proposal for the preparation of an in vitro/in vivo pulsatile system. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1992, 38 (6), 209—212.
26. Maggi, L.; Conte, U.; Burni, R. Delivery Device for the Release of the Active Ingredient in Subsequent Times. Proceed. Int. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, MA, 1999; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1999.
27. Hariharan, M.; Gupta, V. K. Encore: A Novel Compression-Coated Tablet Dosage Form. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., San Diego, CA, 2001; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 2001; 6102.
28. Vandelli, M. A.; L., E.; Forni, F.; Bernabei, M. T. In vitro evaluation of a potential colonic delivery system that releases drug after a controllable lag-time. Eur. J. Pharm. 1996, 43 (2), 148—151.
29. Wilding, I. R.; Davis, S. S.; Pozzi, F.; Furlani, P.; Gazzaniga, A. Enteric coated timed released systems for colonic targeting. Int. J. Pharm. 1994, 111, 99—102.
30. Pozzi, F.; Furlani, P.; Gazzaniga, A.; Davis, S. S.; Wilding, I. R. The time clock system: A new oral dosage form for fast and complete release of drug after a predetermined lag time. J. Control. Release 1994, 31, 99—108.
31. Bodmeier, R.; Guo, X.; Sarabia, R. E.; Skultety, P. The influence of buffer species and strength on diltiazem-hcl release from beads coated with aqueous cationic polymeric dispersions, Eudragit RS, RL30D. Pharm. Res. 1996, 13 (1), 52—56.
32. Narisawa, S.; Nagata, M.; Danyoshi, C.; Yoshino, H.; Murata, K.; Hirakawa, Y.; Noda, K. An organic acid-induced sigmoidal release system for oral controlledrelease preparations. Pharm. Res. 1994, 11 (1), 111—116.
33. Narisawa, S.; Nagata, M.; Hirakawa, Y.; Kobayashi, M.; Yoshino, H. An organic acid-induced sigmoidal release system for oral controlled-release preparations: 2. Permeability enhancement of Eudragit RS coating led by the physicochemical interactions with organic acid. J. Pharm. Sci. 1996, 85 (2), 184—188.
34. Beckert, T. E.; Pogarell, K.; Hack, I.; Petereit, H.-U. Pulsed Drug Release with Film Coatings of Eudragit RS30D. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, MA, 1999; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1999; 5219.
35. Krögel, I.; Bodmeier, R. Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores. Int. J. Pharm. 1999, 187, 175—184.
36. Baker, R. W. Controlled Release Delivery System by an Osmotic Bursting Mechanism. US Patent 3, 952, 741, April 27, 1976.
37. Lerner, I. E.; Flashner, M.; Penhasi, A. Delayed Total Release Gastrointestinal Drug Delivery System. WO Patent 99/18938, 1999.
38. Bussemer, T.; Bodmeier, R. Pulsatile Drug Release from Coated Capsules. AAPS Annual Meeting Abstracts, New Orleans, LA, 1999; American Association of Pharmaceutical Scientists: Alexandria, VA, 1999; 3257.
39. Bodmeier, R. Tableting of coated pellets. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1997, 43, 1—8.
40. Ueda, Y.; Hata, T.; Yamaguchi, H.; Ueda, S.; Kotani, M. Time Controlled Explosion System and Process for Preparation the Same. US Patent 4, 871, 549, October 3, 1989.
41. Ueda, S.; Hata, T.; Yamaguchi, H.; Kotani, M.; Ueda, Y. Development of a novel drug release system, timecontrolled explosion system (TES): I. Concept and design. J. Drug Target. 1994, 2, 35—44.
42. Ueda, S.; Yamaguchi, H.; Kotani, M.; Kimura, S.; Tokunaga, Y.; Kagayama, A.; Hata, T. Development of a novel drug release system, time-controlled explosion system (TES): II. Design of multiparticulate TES and in vitro drug release properties. Chem. Pharm. Bull. 1994, 42 (2), 359—363.
43. Ueda, S.; Yamaguchi, H.; Kotani, M.; Kimura, S.; Tokunaga, Y.; Kagayama, A.; Hata, T. Development of a novel drug release system, time-controlled explosion system (TES): III. Relation between lag time and membrane

thickness. Chem. Pharm. Bull. 1994, 42 (2), 364—367.
44. Hata, T.; Shimazaki, Y.; Kagayama, A.; Tamura, S.; Ueda, S. Development of a novel drug delivery system (TES): V. Animal pharmacodynamic study and human bioavailability study. Int. J. Pharm. 1994, 110, 1—7.
45. Amidon, G. L.; Leesman, G. D. Pulsatile Drug Delivery System. US Patent 5, 229, 131, July 26, 1993.
46. Chen, C.-M. Multiparticulate Pulsatile Drug Delivery System. US Patent 5, 260, 068, November 9, 1993.
47. Chen, C.-M. Pulsatile Particles Drug Delivery System. US Patent 5, 260, 069, November 9, 1993.
48. Schultz, P.; Kleinebudde, P. A new multiparticulate delayed release system: Part I. Dissolution properties and release mechanism. J. Control. Release 1997, 47, 181—189.
49. Schultz, P.; Tho, I.; Kleinebudde, P. A new multiparticulate delayed release system: Part II. Coating formulation and properties of free films. J. Control. Release 1997, 47, 191—199.
50. Heng, P. W. S.; Chan, L. W.; Chew, S. H. Mechanism of pellet coat rupture and its effect on drug release. Chem. Pharm. Bull. 1999, 47 (7), 939—943.
51. Kuethe, D. O.; Augenstein, D. C.; Gresser, J. D.; Wise, D. L. Design of capsules that burst at predetermined times by dialysis. J. Control. Release 1992, 18, 159—164.
52. McNeill, M. E.; Rashid, A.; Stevens, H. N. E. Dispensing Device. WO Patent 90/09168, August 29, 1990.
53. Wilding, I. R.; Davis, S. S.; Bakhshaee, M.; Stevens, H. N. E.; Sparrow, R. A.; Brennan, J. Gastrointestinal transit and systemic absorption of captopril from a pulsed-release formulation. Pharm. Res. 1992, 9, 654—657.
54. Binns, J.; Stevens, H. N. E.; McEwen, J.; Pritchard, G.; Brewer, F. M.; Clarke, A.; Stewart, J. E.; McMillan, I. The tolerability of multiple oral doses of Pulsincap capsules in healthy volunteers. J. Control. Release 1996, 38, 151—158.
55. Davis, S. S. The design and evaluation of controlled release systems for the gastrointestinal tract. J. Control. Release 1985, 2, 27—38.
56. Khosla, R.; Davis, S. S. Gastric emptying and small and large bowel transit of non-disintegrating tablets in fasted subjects. Int. J. Pharm. 1989, 52, 1—10.
57. Krögel, I.; Bodmeier, R. Pulsatile drug release from an insoluble capsule body controlled by an erodible plug. Pharm. Res. 1998, 15 (3), 474—481.
58. Ross, A. C.; Macrae, R. J.; Walther, M.; Stevens, H. N. E. Chronopharmaceutical drug delivery from a pulsatile capsule device based on programmable erosion. J. Pharm. Pharmacol. 2000, 52, 903—909.
59. Krögel, I.; Bodmeier, R. Evaluation of an enzyme containing capsular shaped pulsatile drug delivery system. Pharm. Res. 1999, 16 (9), 1424—1429.
60. Crison, J. R.; Siersma, P. R.; Taylor, M. D.; Amidon, G. L. Programmable Oral Release Technology, Port Systems: A Novel Dosage Form for Time and Site Specific Oral Drug Delivery. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 1995; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1995; 278.
61. Crison, J. R.; Siersma, P. R.; Amidon, G. L. A Novel Programmable Oral Release Technology for Delivering Drugs: Human Feasibility Testing Using Gamma Scintigraphy. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact., 1996; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1996; 51.
62. Wong, P. S. L.; Theeuwes, F.; Larsen, S. D.; Song, L. C. Osmotic Device for Delayed Delivery of Agent. US Patent 5, 443, 459, August 22, 1995.
63. Clear, N. J.; Milton, A.; Humphrey, M.; Henry, B. T.; Wulff, M.; Nichols, D. J.; Anziano, R. J.; Wilding, I. Evaluation of the Intelisite capsule to deliver theophylline and frusemide tablets to small intestine and colon. Eur. J. Pharm. Sci. 2001, 13, 375—384.
64. Graul, E. H.; Loew, D.; Schuster, O. Voraussetzung für die Entwicklung einer sinnvollen Retard-und Diuretikakombination. Therapiewoche 1985, 35, 4277—4291.
65. Wilding, I. R.; Hirst, P. H.; Connor, A. L. The Enterion Capsule: A Novel Technology for the Assessment of Drug Absorption in Man. Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston. MA, 2001; Controlled Release Society: Minneapolis, MN, 1999; 6068.

（杨 莉 译）

药物输送：眼部途径

Massod Chowhan
Alan L. Weiner
Haresh Bhagat
Alcon Research Ltd., Fort Worth, Texas, U. S. A.

引言

眼部给药是药物治疗的重要组成部分。很久以前，人们就已经开始了将药物递送至其作用部位的实践，并成功地开发了各种眼用剂型。有文字记载的眼用制剂最早出现在埃及的纸草本中。在公元前 20 年至公元 50 年，希腊人和罗马人采用将药物溶解于水、牛奶或卵清的方法进行眼部给药[1]。他们将此类制剂称为“洗眼剂”。中世纪出现的“颠茄制剂”或“美丽女士”等词汇均源于此类洗眼剂，其成分可在女士化妆时起到扩瞳作用[2]。洗眼剂为今天滴眼剂的诞生奠定了基础。

第二次世界大战前直至 20 世纪 40 年代，绝大多数的眼用溶液剂是由药剂师在社区药房调制的，用于短期内使用，这可能是由于药物的稳定性尚未经验证造成的。眼用溶液剂以无菌制剂的形式供临床使用是 20 世纪现代滴眼剂发展进程中最重要的里程碑。当时的 Alcon 药房（现为 Alcon Laboratories 有限公司）白天销售晚上生产，在 1947 年最先提供无菌的眼用溶液剂，这比食品药品监督管理局（FDA）在 1953 年颁布的有菌眼用溶液剂属于伪劣药品的法案还要早。随后，美国药典（USP）在 1955 年收载了眼用溶液剂需要达到无菌要求的规定[3]。

随着混悬剂的出现，溶液剂作为唯一的眼用剂型的传统时代在 20 世纪 50 年代结束了。醋酸可的松是第一个商业化的混悬剂产品。通过非正式的途径，人们第一次在临床研究中发现非常小的药物颗粒是可以滴入到眼球表面的。该结果使那些不溶或难溶于水的药物也能够以混悬剂的形式被用来治疗眼部疾病。

在采用混悬剂的形式实现难溶性药物眼部给药方面取得的成功，为开发具有较高附加值的眼用制剂产品开辟了一条新的道路。人们对药物分子基本性质认识水平的提高，以及各种辅料的广泛应用，均促使人们不断开发新型的眼部给药系统。例如，Jani 等[4]报道将 β_1-肾上腺素受体拮抗剂与阳离子聚合物树脂形成的药树脂制成水混悬剂，这种新型给药系统能够降低倍他洛尔给眼部带来的不舒适感，同时能够维持药物控制眼内压的治疗效果。

Gressel 和 Roehrs[5]报道黏度调节剂可用于改善药物在眼表面产生的疗效。聚丙烯酸用于增加溶液的黏度并形成凝胶，以此改善对干眼症的治疗效果。Sullivan 等报道卡波姆凝胶在缓解中度、重度干眼症的主观和客观症状方面具有较好的效果[6]。这样的凝胶制剂具有降低用药频率的优点，并已有商品上市（Pilopine HS 凝胶）。

对聚合物流变学性质的认识为人们开发马来酸噻吗洛尔这一类药物的凝胶形成溶液创造了有利条件。在这种给药系统中，噻吗洛尔被制成水溶液的处方，当其与眼表接触的时候会转变为凝胶，因此延长了药物的滞留时间。接触时间的延长提高了生物利用度，进而使用药频率降低为每日 1 次。两种长效的马来酸噻吗洛尔产品已获批准上市，它们分别以胶凝糖（Timoptic XE）和黄原胶（噻吗洛尔凝胶形成溶液）作为形成凝胶的辅料。Shin 报道了一种用于降低眼内压的每日单剂量给药的剂型[7]。除溶液、混悬剂和凝胶外，进一步开发出来的剂型还包括乳膏、眼膏、眼内注射剂、黏弹性溶液以及一些新的给药装置和插入剂。

眼部药物传递系统的沿革

控释药物传递系统在眼部的应用与早期的眼用剂型相比是一门相对较新的科学，它最早起源于 20 世纪 60 年代后期至 70 年代初期。

1. 接触镜作为眼部给药的载体

最早进行的以延长药物在眼部的作用时间为目的的尝试主要集中于利用一些已有的眼科材料，尤其是亲水性接触镜这种为人们所熟知且非常了解其性能的供眼科使用的固体材料。最初用于制备亲水性接触镜的主要材料是羟乙基甲基丙烯酸酯（HEMA）。因此，人们合成了各种不同的 HEMA 聚合物用于制备接触镜，其中，HEMA 主要与甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸乙氧乙基酯、三甲基丙烯酸-1，3-丙二醇酯、甲基丙烯酸乙烯基酯、甲基丙烯酸烯丙酯、二甲基丙烯酸乙二醇酯、二甲基氧丁基丙烯酰胺或乙烯吡咯烷酮等基团共聚。依据共聚物的组成和交联状态，这种类型的水凝胶可含有 38%～79%的水分。基于这一性质，可以利用其在药物溶液中吸收水分的特性实现载药。相关的应用于 20 世纪 70 年代初期首见报道，有人利用 Griffin 实验室的 Bionite 接触镜与 Bausch & Lomb 公司的 Soflens 接触镜进行了荧光素吸收与释放试验。研究表明，两种不同的接触镜在药物吸收与释放速率方面具有显著差异。今天这样的结果已经不令人感到意外了，因为 Soronson[8] 证

实那些含水量较高且较厚的接触镜吸收放射性示踪剂以后会产生较慢的消除速率。在含水量较低（最低38%）的接触镜中，锝标记物锝消除常数介于0.278～0.155/min。与之相比，水化程度75%的接触镜其消除常数为0.029/min，比前者慢7～10倍。另外一项研究利用妥布霉素也得到了相近的结果[9]。

从有效性的观点来看，早期对HEMA接触镜的研究以匹罗卡品作为模型药物，该药是当时治疗青光眼的首选药物。许多研究报道说，与普通滴眼剂相比，使用含有低匹罗卡品浓度的预吸收接触镜更有效地降低了眼内压并防止药液从眼部溢出[10～14]。随后的研究以噻吗洛尔作为抗青光眼药物[15]，并且发现用聚乙烯甲基丙烯酸甲酯制成的直径13mm、厚0.5mm的圆碟状给药装置因加入碱性添加剂（磷酸氢二钠）而呈现出不同的释放速率。当处方中含有碱性添加剂时，释放速率加快且达峰时间从4h提前至30min。

抗生素也被人们用来考查接触镜的吸收与释放。用红霉素和依托红霉素溶液浸泡过的由甲基丙烯酸酯和聚乙烯吡咯烷酮共聚物制成的各种水凝胶均能够在较长的时间内延缓药物释放，并且在猴子模型身上能抑制衣原体感染[16,17]。此外，给家兔使用吸收了庆大霉素的水凝胶接触镜也可以观察到增高的眼内药物浓度[18]。在临床上，载有庆大霉素、氯霉素或羟苄青霉素的水凝胶接触镜在给药2～12h后可获得比结膜下注射对照溶液更高的药物浓度[19]。载有磺胺异噁唑颗粒的聚HEMA小碟状给药装置可维持168h的延缓释放[20]。与每天给药3次的对照溶液相比，这种缓释作用为小碟状给药装置在家兔模型体内成功地治疗金黄色葡萄球菌感染提供了保证。

以聚HEMA材料为基质的接触镜中，药物的吸收与消除特性与药物自身的性质有关。例如，浸泡7天后，去甲肾上腺素、庆大霉素、匹罗卡品和地塞米松的吸收均有所增加[21]。这些药物几乎完全从接触镜中释放（83%～98%），但接触镜吸收这些药物的最大剂量仅为普通滴眼剂的1/10。聚甲基丙烯酸甲酯吸收的药物总量也非常低。早期的研究支持这些结果，表明眼内植入聚HEMA不会成为地塞米松、氯霉素、肾上腺素和匹罗卡品等药物的长期储库[22]。

在大多数报道考查接触镜中的药物局部释放情况的同时，也有将这些材料作为植入剂型的，如人工晶体的研究报道。Shing等[23]将载有成纤维细胞生长因子（FGF）—硫糖铝的聚HEMA小丸植入到角膜中，作为一种建立新生血管形成模型的方法来评价抗血管生产药物。从第2天开始有新生血管形成，在第11天达到0.41mm/天的最大延伸速度，并一直保持至第13天。

2. 眼插入剂（Ocusert®）

在对接触镜用作药物传释系统进行研究的同时，Alza公司开发了一种乙烯-乙酸乙烯酯共聚物（EVA）膜给药装置(Ocusert®，并最终于1974年上市[20,24～28]。Ocusert®是一种椭圆形的装置，外面由两层控释EVA膜构成，内层为匹罗卡品的海藻酸盐凝胶。该装置能够在7天内连续以20μg/h或40μg/h的速度释放药物。释放速度较快的装置中添加了流量促进剂邻苯二甲酸二乙基己基酯。由于该装置只能以特殊的给药方式起效，所以该给药方式对于青光眼患者来说是有一定难度的。由于某些患者控制IOP效果不理想，或者装置易从眼部脱落，以及存在的刺激性与耐受性方面的问题，因此这种给药装置并未广泛推广使用[29～31]。

3. 可溶蚀的聚合物给药系统

在出现有关Ocusert®给药装置报道的同时，人们也在开展将溶蚀型聚合物系统用于眼部给药的研究。对用于制备可吸收缝合材料的关注使得该研究在20世纪80年代初达到全盛期。人们研究了许多眼用药物通过溶出或溶蚀方式从聚合物基质中释放的过程。除了开发缓释的载体系统之外，此时许多文献还开始利用黏性辅料和生物黏附性材料来延长传释系统在眼部的滞留时间。例如，当处方中含有甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯醇、羧甲基纤维素钠、卡波普941、透明质酸或黏蛋白时，载有匹罗卡品的白蛋白纳米粒在眼部的滞留将得到改善[32]。当卡波普用于由羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素和聚丙烯酸制成的眼用庆大霉素插入剂时也会得到相似的结果[33]。

3.1 聚乙烯醇

用于眼部递药的碟状聚乙烯醇装置最早于1966年被提出，当时是为了供宇航员使用[34]。载有匹罗卡品的药碟在受试者体内展示出了延缓缩瞳与降低IOP的效果。在这些早期的研究中，Maichuk[35～37]证实，载有匹罗卡品、抗生素或抗代谢药物的PVA膜增加了泪液中的药物浓度，同时延长了递药时间。利用铸膜法制得的直径为4mm、厚0.4mm的PVA/匹罗卡品～PAA药碟，能够提高生物利用度，增强家兔体内的缩瞳活性，以及改善青光眼患者的眼内压，控制超过24h之久[38]。一种名为NODS（新型眼部给药系统）的PVA膜给药装置也被用来改进匹罗卡品、托品酰胺、氯霉素和丙美卡因等药物的传释[39]。两层热处理的PVA膜中间载有5mg更昔洛韦，可维持0.25μg/(h·mm²)的释药速率达1周之久[40]。同样的，含有酞胺哌啶酮[41]、环孢素[42]或来氟米特[43]的小丸，当处方中加入PVA或用PVA包衣后，在体外、玻璃体或结膜下均展现出了缓释作用。

3.2 胶原罩给药系统

当胶原罩被批准直接用于眼表面治疗角膜创伤后，利用接触镜给药的概念也随之发展为接触镜形状的胶原罩[44～46]。市场上有数种类型的胶原罩销售，它们分别为Alcon Laboratories公司的ProShield、Bausch & Lomb公司的Bio-Cor和Oasis公司的Soft Shield。这些产品使用的胶原来源于牛或猪，其大小为直径14.5mm、厚0.012～0.071mm。根据交联剂的用量，这些胶原罩在用药后12～

72h溶解。与早期的接触镜研究相似，绝大多数的研究工作考查胶原罩在足够长的时间内吸收药物以后，这些药物从胶原基质中向外释放的情况[47]。因为具有相对较大的孔径，药物扩散进出胶原罩通常不超过2～3h。

许多研究考查了胶原罩对氨基糖苷类抗生素的缓释作用。利用胶原罩给动物以^{14}C标记的庆大霉素，药动学评价结果表明，泪液膜和局部组织（巩膜和角膜）的药物浓度均高于对照组[48]。在假单胞菌角膜炎模型家兔体内，载有庆大霉素[49,50]或妥布霉素[51]的胶原罩与只给药物的对照组动物相比，显著减少了菌群形成单位（CFU）。但是，将胶原罩改成环状[52]或碟状[53]并不会改善庆大霉素的释放。尽管用40mg/mL庆大霉素浸泡过的胶原罩与滴眼剂相比未能增加房水药物浓度[54]，但用胶原罩给药后可测得房水中妥布霉素的浓度[55,56]。无论是重复给以滴眼剂还是使用胶原罩均未能测出玻璃体内的药物浓度。人们对各种眼损伤情况下利用胶原罩给以妥布霉素治疗进行了更广泛的研究[57～62]。利用胶原罩来改善普鲁卡因青霉素、红霉素、依托红霉素[63]、1%硝酸银、5%聚维酮碘、1%葡萄糖酸洗必泰[64]以及5%两性霉素B[65]等药物的释放均有文献报道。

与抗生素研究相似，利用胶原罩传释皮质激素同样可以延长药物作用，增强药物渗透并提高疗效[66～70]。

抗代谢药物，如5-氟尿嘧啶（5-FU），在试验中被用于延缓青光眼患者的伤口愈合，以改善房水外流、降低眼内压。几个研究小组考查了利用胶原罩改善5-FU单独用药疗效的可行性[10,71～73]，其结果表明，药物作用时间和治疗成功率均有所增加。另外一种抗代谢药物三氟胸苷，作为一种潜在的治疗溃疡性疱疹性角膜炎的药物，人们对其从胶原罩中的释放进行了研究[74]。在这些研究中，用载药胶原罩进行治疗后，角膜和房水药物浓度升高了19%～42%。

人们也尝试利用胶原罩技术更有效地治疗青光眼。在这一点上，胶原罩具有延缓匹罗卡品[75～77]和三甲苯心安[78]释放的作用。

胶原质片用于治疗伤口具有最突出的优势。人们利用加入生长因子的方法增强材料本身固有的保护作用。胶原碟在100μg/mL血小板源性表皮生长因子溶液中浸泡5min，能够加快家兔损伤角膜的愈合速度[79]。将含有组织纤溶酶原激活剂的胶原罩置于角膜表面，纤维凝块消散的时间比对照组缩短达50%[80]。另外一种伤口愈合调节剂环孢素A，用胶原罩局部给药后，角膜和房水药物浓度高于对照组10倍超过8h之久[81]。

3.3 聚乳酸（PLA）、聚乙醇酸（PGA）与聚己酸内酯（PCL）

进一步的发展是利用可生物降解材料而不是胶原来制备眼部药物传递系统，这就涉及了溶蚀性缝合材料的应用。聚乳酸、聚乙醇酸和聚己酸内酯是溶蚀性缝合线的主要材料，如Davis & Geck公司的Dexon®和Ethicon公司的Vicryl® Polyglactin。用这些聚合物进行眼部药物传递的焦点一直集中于实现5-FU的缓释。PLA/PGA共聚物制成的5-FU缓释微球被用于青光眼滤过手术和治疗增殖性玻璃体视网膜病变[82～86]。在体外试验中，5-FU的释放在7天内是可以控制的，而将其注射到玻璃体内后，载有2mg药物的PLA微球在48天内逐渐降解。在PVR模型中，给以载有1.25mg药物的PLA微球，与给以注射剂的对照组相比，受试动物的牵拉性视网膜分离发生率由60%降至10%[83]。在动物体内，给以载有250μg 5-FU的PLA/PGA微球或载有1mg 5-FU的小棒后，玻璃体内药物浓度可以测出的时间长达11[87]～21天[88～90]。载有5-FU的PLA/PGA装置可防止动物模型发生视网膜分离，而单独用药时不会产生这样的作用。载有5-FU的PLA/PGA碟用于青光眼滤过手术其有效性也能够维持1个月以上[91,92]。这种类型的给药装置会出现一些炎症和血管增生反应，其反应程度取决于植入部位[90,93]。PLA微球用作其他抗代谢药物，如阿霉素的载体，同样具有缓释作用[94,95]。

PLA、PGA和PCL给药系统在递送抗青光眼药物方面同样具有一定的意义。由己酸内酯制成的包载1%盐酸喹酮心安或0.5%倍他洛尔的纳米粒（粒径150nm）和纳米囊（粒径300nm）对高血压模型比对照组更加有效[96,97]。给家兔使用包载盐酸匹罗卡品的PLA微囊后也观察到了延长的缩瞳作用[98]。

吲哚美辛、氟康唑和地塞米松等抗炎、抗感染药物被包埋在PLA、PGA或PCL载体中后，也可显著增加药物浓度或作用时间[99～101]。

3.4 聚酸酐、聚原酸酯与聚烷基氰基丙烯酸酯

除了使用缝合材料外，20世纪80年代还引入了新型的溶蚀材料作为潜在的眼用缓控释给药系统的载体。

如同PLA或PLG载体一样，人们也研究了利用聚酸酐或聚原酸酯制备5-FU缓释制剂来治疗青光眼或PVR[102～107]。采用压制技术，以（*p*-羧基苯氧基）烷和癸二酸共同制成了聚酸酐给药装置。碟形或T形的载有10%～20% 5-FU的聚酸酐装置与对照组相比延长了降低IOP的时间，提高了疱疹模型动物的存活率，更好地抑制了PVR模型造成的牵拉性视网膜分离。包载柔红霉素[108]或丝裂霉素C[109]的聚酸酐植入剂在过滤性疱疹存活率和降低IOP方面也取得了相似的结果。人们研究了结膜下给以依托泊苷[110]、玻璃体或前房给以庆大霉素[111]后，聚酸酐植入剂中药物的释放情况。在这些报道中，缓慢释放至少可以维持1周以上。在玻璃体内给药的情况下，聚原酸酯能够缓慢释放更昔洛韦达144h，释放速度受溶出介质pH的控制[112]。

一些文献报道了可生物降解的聚烷基氰基丙烯酸酯纳米粒的眼内分布与消除[113～117]。包载匹罗卡品的聚丁基氰基丙烯酸酯纳米粒单独使用或分散于凝胶型处方中给药，在各种动物模型体内均能够增强和延长缩瞳作用与降压效果[118～122]。

4. 非溶蚀系统

明显有别于20世纪70年代接触镜或Ocusert®的发展，

这是新近出现的用于眼内递药的另外一类有前景的给药系统，主要用于治疗黄斑变性、白内障、视网膜疾病和炎症。

4.1 Vitrasert®

Vitrasert®于1996年由Bausch & Lomb公司获准生产，为杯状的乙烯乙酸乙烯膜包裹着圆柱形的更昔洛韦内核，其外表面覆盖着一到两层渗透性的PVA膜以便允许药物扩散[123~134]。在杯的底部，有一个由PVA制成的用于缝合的锚定支柱。该装置的药物内核直径为2.5mm，用于治疗由细胞巨化病毒（CMV）导致的视网膜炎时，可在玻璃体中维持缓慢释药达6～8个月以上的时间。该装置也被植入不同部位用于传释5-FU[126~130]、氟比洛芬[131]、环孢素[132]、多佐胺[133]和地塞米松[134]等药物。一种改进版的装置由更昔洛韦与乳酸-乙醇酸共聚物的内核构成，外面包裹着交联的聚［HEMA-共（PVA-AA)］膜，可在玻璃体内释药超过63天[135]。

4.2 硅橡胶

长久以来，眼科手术一直在使用硅橡胶聚合物作为巩膜扣带和海绵、视网膜填塞物以及可以折叠的眼内透镜。硅橡胶弹性体和橡胶本质上是疏水的，因此能够实现许多药物的长期释放。人们研究了一种被称为“迷你碟”的直径为4～5mm的碟状硅橡胶聚合物在放入结膜囊中后释放庆大霉素的情况[20,136]。在给药后10～14天内都可以观察到药物的缓慢释放，期间泪液药物浓度约为2.5mg/L。粒径150～200μm包载噻吗洛尔的硅橡胶纳米粒能够有效延缓药物释放[137]。内径1.46mm、长15mm，填充了2.5～20mg/mL噻吗洛尔溶液的密封硅胶管可在体外[138]与体内[139]维持缓慢释药8h。最近，又有人开发出了供结膜囊深部（穹窿）给药的面条状固体硅橡胶控释小棒，Ocufit SR®[140~143]。该小棒可缓慢释放土霉素或二氯芬酸钠达数周之久，而且患者用药依从性良好[144,145]。液态的硅橡胶在开发给药系统时可用于表面包衣。有人采用这种方法制备了聚二甲基硅氧烷包衣的固体药物植入剂，用于增强给药系统在眼内的缓释效果[41,42]。

结论

有效的眼部药物传递取决于一些肌体因素，包括受体的活性、药物在用药部位的吸收与渗透、体内的消除速率、药物在用药部位的释放速率与持续时间、总剂量的毒性以及患者的依从性。可以被患者接受的眼部药物传递系统，通常其演变过程同时受上述几种因素的影响。溶液或混悬型滴眼剂以及眼膏剂仍然是标准治疗方案中的一线治疗方法。但是，在需要减少用药频率或给不易进入的眼组织用药时，需要使用一些特殊的给药方法。在这种情况下，使用凝胶、可溶蚀或不溶蚀的聚合物系统均具有重要的价值。

参考文献

1. Olejnik, O. Conventional Systems in Ophthalmic Drug Delivery. Ophthalmic Drug Delivery Systems; Mitra, A. K. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 177—198.
2. King, R. E. Dispensing of Medication, 9th Ed. Mack Publishing Co.
3. USP Pharmacopeia. United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville MD, 1995.
4. Jani, R.; Gan, O.; Ali, Y.; Rodstrom, R.; Hancock, S. J. Ocul. Pharmacol. 1994, 10, 57.
5. Gressel, P. D.; Roehrs, R. E., US Patent 5, 075, 104, 1991.
6. Sullivan, K. J.; McCurrach, F.; Lee, S.; Taylor, H. R.; Rolando, M.; Marechal-Courtois, C.; Creuzot, G. C.; East, D. L.; Karabatsas, C.; Bingh-Hoh, M.; Faschinger, C.; Laroche, L. Ophthamol. 1997, 104, 140.
7. Hosaka, S.; Ozawa, H.; Tanzawa, H.; Kinitomo, T.; Nichols, R. L. Vivo Evaluation of Ocular Inserts of Hydrogel Impregnated with Antibiotics for Trachoma Therapy Basic Research Laboratories and the Department of Microbiology Harvard School of Public Health, 1982.
8. Soronson, T. B. Acta Ophthalmol. 1984, 167 (Suppl.), 1.
9. Matoba, A. Y.; McCulley, J. P. Ophthalmol., 1985, 92, 97.
10. North, D. P. Can. Med. Assoc. J. 1971, 105, 561.
11. Podos, S. M.; Becker, B.; Assoff, C. Am. J. Ophthalmol., 1972, 73, 336.
12. Kaufman, H. E.; Uotila, M. H.; Gasset, A. R.; Wood. T. O.; Ellison, E. D. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol. 1971, 75, 361.
13. Krohn, D. L. Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 1978, 76, 502.
14. Krohn, D. L.; Breitfeller, J. M. Invest. Ophthalmol. 1975, 14, 152.
15. Urtti, A.; Kyyrönen, K.; Finne, U.; Vartianinen, E.; Väisänen, V. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1990, 17, 472.
16. Ozawa, H.; Hosaka, S.; Kunitomo, T.; Tanzawa, H. Biomaterials 1983, 4, 170.
17. Hosaka, S.; Ozawa, H.; Tanzawa, H.; T Kunitomo; Nichols, R. L. Biomaterials 1983, 4, 243.
18. Mester, U.; Krasemann, C.; Stein, H. J. Klin. Monstsbl. Augenheilkd 1976, 169, 492.
19. Jain, M. R. Br. J. Ophthalmol. 1988, 72, 150.
20. Bawa, R. Ophthalmic Drug Delivery Systems; Mitra, A. K. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993, 223.
21. Chapman, J. M.; Cheeks, L.; Green, K. J. Cataract Refract. Surg. 1992, 18, 456, 9.
22. Heyman, T. P.; McDermott, M. L.; Ubels, J. L.; Edelhauser, H. F. J. Cataract Refract. Surg. 1989, 15, 169.

23. Shing, Y.; Gonzales, E. M.; Li, W. W.; Casey, R.; Panigrahy, D.; Folkman, J. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 1027.
24. Baker, R.; Lonsdale, H. Chem. Technol. 1975, 5, 668.
25. Urquhart, J. Ophthalmic Drug Delivery System; Robinson, J. R., Ed.; American Pharmaceutical Association: Washington, DC, 1980; 105.
26. Shell, J. W. Ophthalmic Surg. 1974, 5, 73.
27. Chien, Y. W. Novel Drug Delivery Systems; Ch. 2 Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982; 13.
28. Friederich, R. L. Ann. Ophthalmol. 1974, 6, 1279.
29. Sihvola, P.; Puustjarvi, T. Acta Ophthalmol. 1980, 58, 933.
30. Akerblom, T.; Aurell, E.; Cristiansson, J.; Kriisa-Kunnos, V.; Wiebert, O. Acta Ophthalmol., 1980, 58, 617.
31. Pollack, I. P.; Quigley, H. A.; Harbin, T. S. South Med. J. 1976, 69, 1296—1299.
32. Zimmer, A. K.; Chetoni, P.; Saettone, M. F.; Zerbe, H.; Kreute, J. J. Contr. Rel. 1995, 33, 31.
33. Gurtler, F.; Kaltsatos, V.; Boisrame, B.; Gurny, R. J. Contr. Rel. 1995, 33, 231.
34. Yakovlev, A. A.; Lenkevich, M. M. Vestn. Ophthalmol. 1966, 79, 40.
35. Maichuk, Y. F. Antibiotiki 1967, 5, 435.
36. Maichuk, Y. F. Invest. Ophthalmol. 1975, 14, 87.
37. Maichuk, Y. F. Lancet 1 1975, 173.
38. Saettone, M. F.; Giannaccini, B.; Chetoni, P.; Galli, G.; Chiellini, E. J. Pharm. Pharmacol. 1984, 36, 229.
39. Richardson, M. C.; Bentley, P. H. Ophthalmic Drug Delivery Systems; Mitra, A. K., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 355.
40. Pearson, P. A.; Hollins, J. C.; Baldwin, L. B.; Smith, T. J. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 511.
41. Velez, G.; Robinson, M. R.; Durbin, T.; Yuan, P.; Sung, C.; Whitcup, S. M. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1999, 40, 584.
42. Robinson, M. R.; Yuan, P.; Gogolak, L.; Tansey, G.; Smith, J.; Whitcup, S. M. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol., 1999, 40, S84.
43. Gogolak, L.; Robinson, M. R.; Yuan, P.; Aghera, A.; Sung, C.; Whitcup, S. M. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. 1999, 40, S85.
44. Mondino, B. J. Am. J. Ophthalmol., 1991, 112, 587.
45. Robin, J. B.; Keys, C. L.; Kaminski, L. A.; Viana, M. A. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 1294.
46. Harrison, K. W. J. Ophthalmic Nurs. Technol. 1989, 8, 97.
47. Fridberg, M. L.; Pleyer, U.; Mondino, B. J. Ophthalmol. 1991, 98, 725.
48. Bloomfield, S. E.; Miyata, T.; Dunn, M. W.; Bueser, N.; Stenzel, K. H.; Rubin, A. L. Arch. Ophthalmol. 1978, 96, 885.
49. Silbiger, J.; Stern, G. A. Ophthalmol. 1992, 99, 889.
50. Brockman, E. B.; Hobden, J. A.; Hill, J. M.; O'Callaghan, J.; Reidy, J. J.; Insler, M. S.; Kaufman, H. E. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 558.
51. Hobden, J. A.; Reidy, J. J.; O'Callaghan, R. J.; Hill, J. M.; Insler, M.; Rootman, D. Arch. Ophthalmol. 1988, 106, 1605.
52. Foster, J. A.; Robin, J. B.; Shipplett, C.; Viana, M.; Foster, F. J. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1291.
53. Liang, F.-Q.; Viola, R. S.; Nakada, S.; del Cerro, M.; Aquavella, J. V. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 2194.
54. Baziuk, N.; Gremillion, C. M.; Peyman, G. A.; Cho, H. K. Int. Ophthalmol. 1992, 16, 101.
55. Unterman, S. R.; Rootman, D. S.; Hill, J. M.; Parelman, J. J.; Thompson, H. W.; Kaufman, H. E. J. Cataract Refract. Surg. 1988, 14, 500.
56. Duzman. E.; Chen, C. C.; Takruri, H. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1291.
57. Sawusch, M. R.; O'Brien, T. P.; Dick, J. D. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1988, 29, 228.
58. O'Brien, T. P.; Sawusch, J. D.; Hamburg, T. R. J. Cataract Refract. Surg. 1988, 14, 505.
59. Shofner, R. S.; Kaufman, H. E.; Hill, J. M. Ophthalmol. Clin. North Amer. 1989, 2, 15.
60. Unterman, S. R.; Rootman, D. S.; Hill, J. M.; Kaufman, H. E. ARVOAbstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1988, 29, 52.
61. Poland, D. E.; Kaufman, H. E. J. Cataract Refract. Surg. 1988, 14, 489.
62. Assil, K. K.; Zarnegar, S. R.; Fouraker, B. D.; Schanzlin, D. J. Amer. J. Ophthalmol., 1992, 113, 418.
63. Punch, P. I.; Costa, N. D.; Edwards, M. E.; Wilcox, G. E. J. Vet. Pharmacol. Ther. 1987, 10, 37.
64. Esswein, M. B.; O'Brien, T. P.; Osato, M. S.; Jones, D. B. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 452.
65. Schwartz, S. D.; Harrison, S. A.; Engstrom, R. E.; Bowden, R. E.; Lee, D. A.; Mondino, B. J. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 558.
66. Hwang, D. G.; Stern, W. H.; Hwang, P. H.; MacGow-

an-Smith, L. A. Arch. Ophthalmol. 1989, 107, 1375.
67. Hwang, D. G.; Stern, W. H.; Alyeat, E. B.; MacGowan-Smith, L. A. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 248.
68. Aquavella, J. V.; Ruffini, J. J.; LoCascio, J. A. J. Cataract Refract. Surg. 1988, 14, 492.
69. Sawusch, M. R.; O'Brien, T. P.; Updegraff, S. A.; Gottsch, J. D. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 479.
70. Finkelstein, I.; Trope, G. E.; Menon, I. A.; Rootman, D. S.; Basu, P. K. Curr. Eye Res. 1990, 9, 653.
71. Finkelstein, I.; Trope, G. E.; Menon, I. A.; Spero, L.; Rootman, D. S.; Heathcoat, J. F. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 591.
72. Sachdev, S.; Zou, X.; Higgenbothan, E. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 3.
73. Hasty, B.; Hever, D. K.; Minckler, D. S. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 418.
74. Gussler, J. R.; Ashton, P.; VanMeeter, W. S.; Smith, T. J. ARVOAbstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 485.
75. Laucuta, S. E. Int. J. Pharmaceut. 1989, 54, 71.
76. Kitazawa, Y. Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 1975, 79, 1715.
77. Vasantha, R.; Sehgal, P. K.; Panduranga Rao, K. Int. J. Pharm. 1988, 47, 95.
78. Ball, S.; Badeaux, J.; Graham, M.; Balazy, M.; Bazan, N. G. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 405.
79. Nakada, S.; Viola, R. S.; Aquavella, J. V. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1292.
80. Murray, T. G.; Jaffe, G. J.; McKay, B. S.; Han, D. P.; Burke, J. M.; Abrams, G. W. Refract. Corneal Surg. 1992, 8, 44.
81. Reidy, J. J.; Gebhardt, B. M.; Kaufman, H. E. Cornea 1990.
82. Moritera, T.; Ogura, Y.; Arai, M.; Honda, Y.; Wada, R.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 249.
83. Moritera, T.; Ogura, Y.; Yoshimura, N.; Honda, R.; Wada, R.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 384.
84. Moritera, T.; Ogura, Y.; Yoshimura, N.; Kuriyama, S.; Nakano, T.; Honda, Y.; Tabata, Y.; Ikada, Y. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1294.
85. Moritera, T.; Ogura, Y.; Kimura, H.; Misumi, C.; Takeuchi, A.; Honda, Y.; Ikada, Y. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 1012.
86. Moritera, T.; Ogura, Y.; Honda, Y.; Wada, R.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1785.
87. Peyman, G. A.; Conway, M.; Khoobehi, B.; Soike, K. Int. Ophthalmol. 1992, 16, 109.
88. Davis, P. A.; Kiss, K.; Parrish, R. K.; Villain, F.; Parel, J.-M.; Cousins, S. W. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1992, 19, 339.
89. Rubsamen, P. F.; Davis, P.; Hernandez, E.; Parel, J.-M.; Cousins, S. W. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 728—737.
90. Portugal, L.; Parel, J.-M.; Parrish, R.; Bichon, D. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1989, 16, 105.
91. Sheardown, H.; Chiu, L.-K.; Chiu, W.-J.; Trope, G. E.; Cheng, Y.-L.; Rootman, D. S.; Gould, L.; Liu, G. S. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 1390.
92. Gould, L.; Trope, G. E.; Morrison, H.; Cheng, Y.-L.; Rootman, D. S.; Heathcoat, G.; Menon, I. A.; Rootman, D. S.; Liu, G. S.; Chiu, L.-K.; Basu, P. K.; Lyn, W. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1122.
93. Khoobehi, B.; Stradtmann, M. O.; Peyman, G. A.; Aly, O. M. Ophthalm. Surg. 1990, 21, 840.
94. Moritera, T.; Ogura, Y.; Yoshimura, N.; Honda, Y.; Wada, R.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 3125.
95. Kimura, H.; Ogura, Y.; Moritera, T.; Honda, Y.; Wada, R.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 3436.
96. Maincent, P.; Marchal-Heussler, L.; Sirbat, D.; Thouvenot, P.; Hoffman, M.; Vallet, J. A. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1992, 19, 226.
97. Marchal-Heussler, L.; Sirbat, D.; Hoffman, M.; Maincent, P. Pharm. Res. 1992, 10, 386.
98. Vidmar, V.; Pepeljnjak, S.; Jalsenjak, I. Microencapsul. J. 1985, 2, 289.
99. Masson, V.; Billardon, P.; Fessi, H.; Devissaguet, J. P.; Puisieux, P. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1992, 19, 423.
100. Kimura, H.; Ogura, Y.; Moritera, T.; Honda, Y.; Hyon, S.-H.; Ikada, Y. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 1013.
101. Herrero-Vanrell, R.; Alvarez-Santiago, C.; Barcia, E. Invest. Ophthalmol. 1999, 40, S84.
102. Lee, D. A.; Leong, K. W.; Panek, W. C.; Eng, C. T.; Glasgow, B. J. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1988, 29, 1692.

Y

103. Lee, D. A.; Flores, R. A.; Anderson, P. J.; Leong, K. W.; Teekhasaenee, C.; DeKater, A. W.; Hertzmark, E. Ophthalmol. 1987, 94, 1523.
104. Jampel, H. D.; Leong, K. W.; Dunkelberger, G.; Quigley, H. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1989, 30, 417.
105. Lewis, H.; Schwartz, S.; Lee, D. A.; Leong, K. W. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1047.
106. Alonso, J. I.; Pastor, J. C.; Lopez. I.; Mate, A.; Mateu, C.; Aberola, A.; Sañudo, C. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 1293.
107. Tabatabay, C.; Einmahl, S.; Behar-Cohen, F.; Gurny, R. Invest. Ophthalmol. 1999, 40, S84.
108. Dukes, A. J.; Rabowsky, J. H.; Lee, D. A.; Leong, K. W. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol Vis. Sci. 1992, 33, 1391.
109. Charles, J. B.; Ganthier, R. Jr; Wilson, M. R.; Lee, D. A.; Baker, R. S.; Leong, K. W.; Glasgow, B. J. Ophthalmol. 1991, 98, 503.
110. Koya, P.; Jampel, H.; Quigley, H.; Leong, K. W. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 745.
111. Merkli, A.; Wüthrich, P.; Heller, J.; Tabatabay, C.; Gurny, R. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 1392.
112. Gaynon, M.; Heller, J.; Wüthrich, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 883.
113. Wood, R. W.; Li, V. H. K.; Kreuter, J.; Robinson, J. R. Int. J. Pharm. 1985, 23, 175.
114. Diepold, R.; Kreuter, J.; Guggenbuhl, P.; Robinson, J. R. Int. J. Pharm. 1989, 54, 149.
115. Li, V. H.; Wood, R. W.; Kreuter, J.; Hamia, T.; Robinson, J. R. Microencapsul. J. 1986, 3, 213.
116. Zimmer, A.; Kreuter, J.; Robinson, J. R. Microencapsul. J. 1991, 8, 497.
117. Das, S. K.; Tucker, I. G.; Davies, N. M. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1992, 19, 395.
118. Harmia, T.; Speiser, P.; Kreuter, J. J. Microencapsul. 1986, 3, 3.
119. Harmia, T.; Kreuter, J.; Speiser, P.; Boye, T.; Gruny, R.; Kubis, A. Int. J. Pharm. 1986, 33, 187.
120. Diepold, R.; Kreuter, J.; Himber, J.; Gurny, R.; Lee, V. H. K.; Robinson, J. R.; Saettone, M. F.; Schnaudigel, O. E. Greafe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1989, 227, 188.
121. Cheeks, L.; Green, K.; Stone, R. P.; Riedhammer, T. Curr. Eye Res. 1989, 8, 1251.
122. Desai, S. D.; Blanchard, J. S-200 Abstract PDD 7125. Pharm. Res. 9 1992.
123. Goins, K. M.; Blandford, D. L.; Pearson, P. A.; Schmeisser, E.; Hollins, J. C.; Smith, T. J. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1990, 31, 364.
124. Smith, T. J.; Pearson, P. A.; Blandford, D. L.; Brown, J. D.; Goins, K. A.; Hollins, J. L.; Schmeisser, E. T.; Glavinos, P.; Baldwin, L. B.; Ashton, P. A. Arch. Ophthalmol. 1992, 110, 255.
125. Sanborn, G. E.; Anand, R.; Torti, R. E.; Nightingale, S. D.; Cal, S. X.; Yates, B.; Ashton, P.; Smith, T. J. Arch. Ophthalmol. 1992, 110, 188.
126. Baldwin, L. B.; Pearson, P. A.; Smith, T. J. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1990, 17, 417.
127. Blandford, D. L.; Smith, T. J.; Brown, J. D.; Pearson, P. A.; Ashton, P. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 3430.
128. Smith, T. J.; Dharma, S.; Rafii, M.; Ashton, P. ARVO, Invest. Abstract. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992, 33, 737.
129. Pearson, P. A.; Solomon, K. D.; Van Meter, W. S.; Smith, T. J.; Ashton, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 797.
130. Amrien-Noll, J.; Brown, J. D.; Ashton, P.; Conklin, J.; Gussler, J.; Smith, T. J.; Hollins, J. C. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1991, 32, 797.
131. Hainsworth, D. P.; Rafii, M.; Conklin, J. D.; Ashton, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1491.
132. Pearson, P. A.; Jaffe, G. J.; Martin, D. F.; Ashton, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1492.
133. Rafii, M.; Blandford, D. L.; Ashton, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1492.
134. Baker, C. W.; Hainsworth, D. P.; Conklin, J. D.; Ashton, P. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1492.
135. Yang, D. C. S.; Wang, Y. J.; Chang, W. C.; Wang, W. W.; Liu, J. H. Invest. Ophthalmol. 1999, 40, S87.
136. Bawa, R.; Nandu, M.; Downie, W.; Robinson, J. R. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. 1989, 16, 213.
137. Sutinen, R.; Laasanen, V.; Paronen, P.; Urtti, A. J. Contr. Rel. 1995, 33, 163.
138. Urtti, A.; Pipkin, J. D.; Rork, G.; Repta, A. J. Int. J. Pharm. 1990, 61, 235.
139. Urtti, A.; Pipkin, J. D.; Rork, G.; Sendo, T.; Finne, U.; Repta, A. J. Int. J. Pharm. 1990, 61, 241.

140. Darougar, S. US Patent 5, 147, 647, 1992.
141. Weiner, A. L.; Darougar, S.; Siddque, M.; Raul, V. ARVO Abstract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1489.
142. Weiner, A. L.; Darougar, S.; Siddque, M.; Raul, V. Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mat. Abstract 1993, 20, 1222.
143. Darougar, S.; Weiner, A. L. US Patent 5, 322, 691, 1994.
144. Peiffer, R. L.; Osborne, C. M.; Smith, P. C.; Wang, C.; Weiner, A. L. Invest. Ophthalmol. 1995, 36, S1021.
145. Hubbell, H. R.; Noonan, J. S.; Lee, S. B.; Swaminathan, A.; Kaminski, E. A.; Edelhauser, H. F. Invest. Ophthalmol. 1999, 40, S85.

（魏 刚 译）

Y

Y

药物输送：阴道途径

Yie W. Chien
Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan
Chi H. Lee
The University of Missouri-Kansas City, Kansas City, Missouri, U. S. A.

引言

阴道给药制剂已经开发和临床应用多年，用于药物的局部和全身治疗。最初阴道给药制剂主要是治疗一些特殊的妇科疾病。为了评价患者对阴道制剂的选择情况，于是针对阴道用制剂的女性应用开展了一个小范围的调查，调查数据显示，这种给药方式有良好的市场前景[1]。可以使用阴道给药的产品包括避孕药、抗真菌药、抗菌药、清洁剂、除臭剂和润滑剂。这些产品被开发成片剂、胶囊剂、乳膏剂、栓剂、泡沫剂、膜剂、溶液剂、软膏剂和凝胶剂等。目前，许多仅用于阴道局部治疗的处方药和非处方（OTC）药已经获准上市。

近年来，阴道的吸收能力已被认知，这表明阴道可以为那些全身给药的药物直接进入血液循环提供了一个可能的途径（图 1），同时又可避免肝脏-胃肠道（GI）的代谢。一些口服后被大量代谢掉的药理活性成分，如黄体酮和雌激素，通过阴道给药可以产生全身疗效。阴道途径作为给药系统中一个新的给药部位，已经引起人们广泛的关注，尤其是那些经肝脏首过效应而被消除的治疗成分，如蛋白质和肽类。

本章描述了人体阴道的生理特征、吸收特性、渗透功能。读者可以通过本章了解目前阴道给药的研究趋势，以及阴道给药的药物吸收的情况。

人体阴道

1. 解剖学概要

阴道是一个连接阴道口和子宫颈的管道（图 1），其形态学和解剖学已经有很详细的研究[2]。从生理学角度看，阴道具有一些功能，主要是精液的通路和月经排泄的管道，同时也是生殖道的下端[3]。成年女性的阴道前部分平均长 6～7cm，后壁部分长 7.5～8.5cm。

阴道具有不同寻常的弹性特征，在分娩时能产生最大的弹性。沿着阴道，在阴道前壁和尿道之间，以及在阴道后壁和肠道之间都有一层较厚的结缔组织。阴道壁自身包括三层组织：上皮细胞层、肌肉层、外膜层。上皮细胞层由上皮层和固有层组成，它是一种非角质化的复层鳞状上皮细胞，会随年龄的增长而变化。上皮细胞从出生到青春期会不断萎缩，在青春期激素分泌的增加会使上皮层增厚，

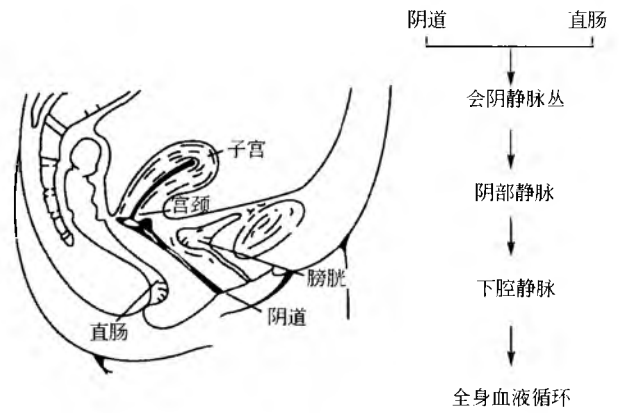


图 1 女性骨盆的纵切面图，示意药的吸收进入全身循环的途径

抵抗力增强。在上皮下层，有很多网状弹性纤维包裹着固有层，胶原纤维包裹着外膜层，与肌肉层形成连接。阴道上皮细胞会随着女性不同的生理阶段而出现变化。上皮层在增生期最厚，在产卵期达到峰值，在分泌阶段逐渐缩小。阴道肌肉层由平滑肌和弹性纤维组成。螺旋状纤维可以使阴道承受牵拉而不至于断裂。外膜层由附在肌肉上的疏松结缔组织构成，阴道腔容积的变化是由于这一层受牵拉所致。阴道内含有丰富的动脉血管、静脉血管和毛细淋巴管，以及感觉神经、自律神经。

1.1 细胞结构

对健康志愿者在排卵期、黄体期、绝经后期及卵巢切除手术后进行阴道活检的相关组织学研究，利用电镜观察阴道黏膜超微结构的特征[4]。研究发现，阴道黏膜的上皮层有 5 层不同细胞层：基底层、间生层、转化层、中间层和表皮层（图 2）。构成这些细胞层的细胞类型在受到激素刺激和细胞间信息的传导时会不断更新。基底层细胞呈典型的柱状或鳞片状，细胞膜表面有微绒毛。间生层细胞在形态和大小上与基底层细胞相似，但是表面有更多的微绒毛和镶嵌连接，为适应周围细胞间隙而形成了多角形的形状。中间层细胞有微绒毛，细胞形状最大。转化层细胞在形态上显示出明显退化的记号，细胞表面特征逐步消失，微绒毛和细胞连接处（细胞桥粒）逐步变薄。表皮层，正如其术语的表达，是生理周期中排卵期的最外层细胞。

阴道上皮组织含有一个细胞间通道的网状结构，在黄体期和排卵期能不断生长直至最大。过渡层和表皮层内的细胞通道不随生理周期的改变而变化，而基底层、副基底层和中间层的细胞通道会发生变化。这些通路向上皮组织层输送营养，并转运代谢物。因为阴道缺乏分泌腺，所以通过这些管道可以提供润滑剂。有趣的是，不同的物质通过阴道黏膜都显示有快速的吸收，这些吸收情况将在下面进行讨论。细胞间连接包括胞桥小体和紧密连接都已经得到辨别。在中间层胞桥小体最显著，并向表皮层逐渐变少，这种结构在阴道细胞的脱落中起到重要的作用。

阴道上皮层受到卵巢激素的影响会出现周期性的变化（图 3），尽管不会像子宫的变形那么剧烈，但仍然会有增

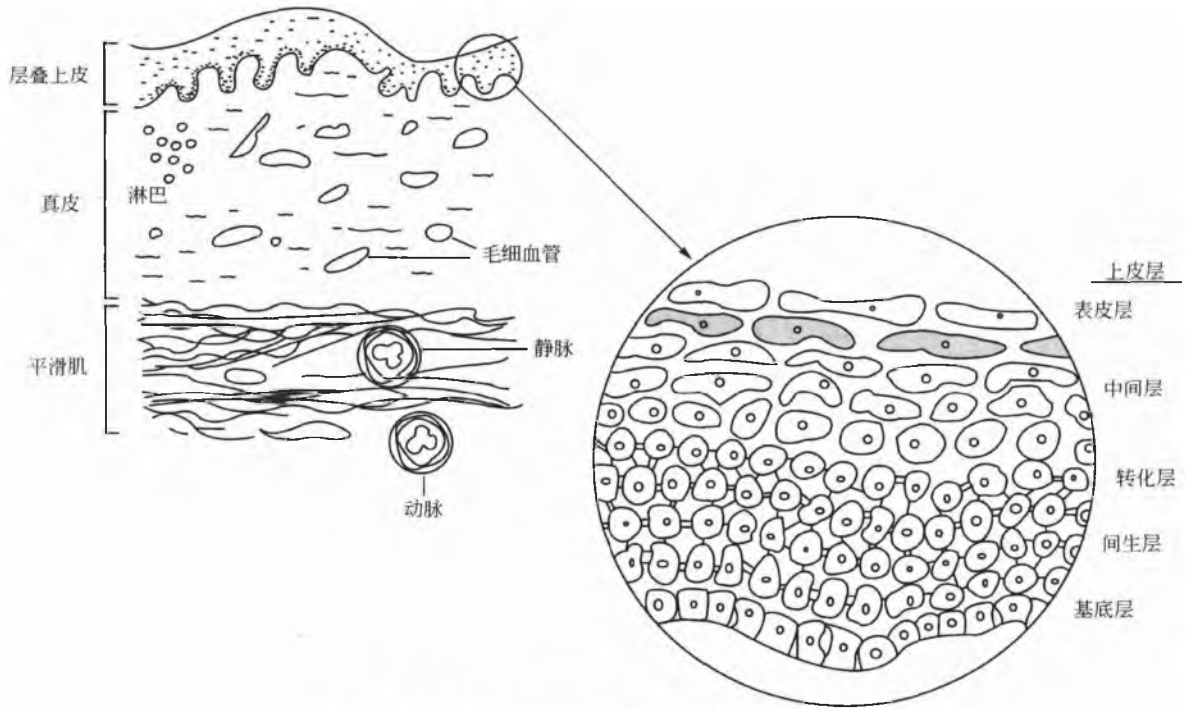


图 2　阴道壁的切面图，放大显示了层叠的上皮层[6]

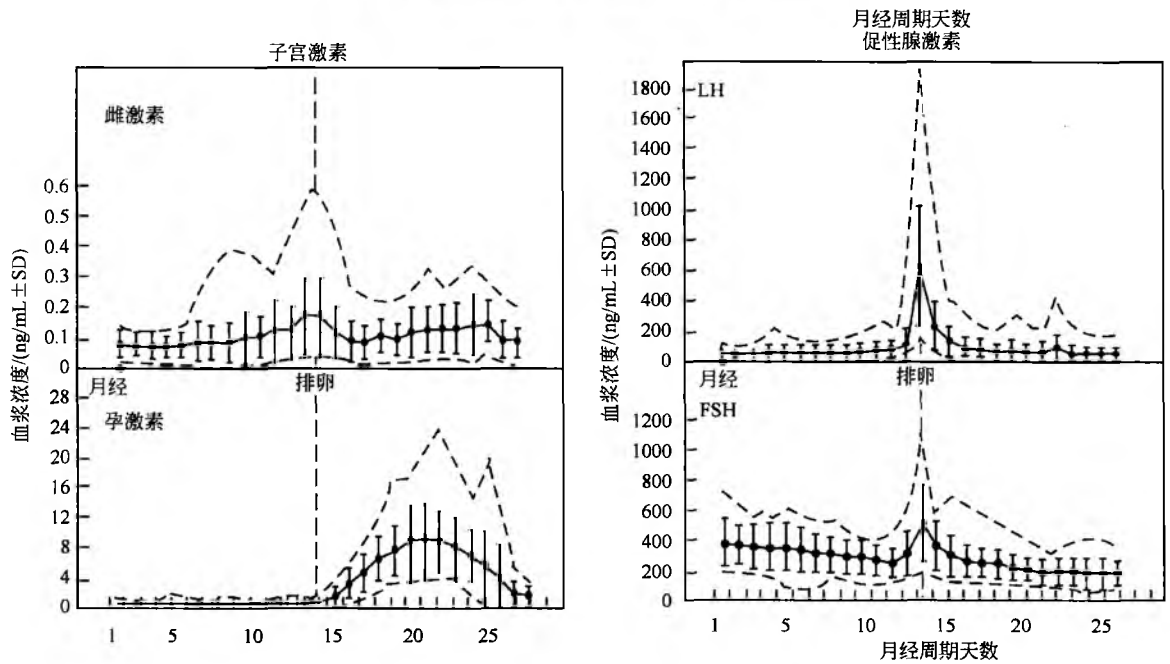


图 3　正常月经周期中促性腺激素和子宫激素的变化曲线。阴道上皮的细胞层数从 0 天的 22 层到排卵时的 45 层，第 20 天时降到 33 层[164]

生、分化、剥离等一系列的变化。在卵泡形成期，从月经后到排卵，基础层和副层的细胞有丝分裂会加剧，细胞数增加，导致上皮细胞层厚度增加。剥落层一直增殖到排卵期，排卵期后，这一层会不断地变少、脱落，并通过阴道腔排出。在黄体期，排卵后的阶段，由于正常表皮层的缺少，过渡层会变得很薄。

我们发现，基底层细胞会不断地复制，给上皮层提供了自我清除机制。用放射自显影技术，对正常人的子宫颈和阴道细胞增殖进行研究[5]，通过这些研究计算得到了细胞的更新时间，即取代细胞所需的确切时间。研究结果显示，基底层相对无活性，更新速率为 33 天，而次基底层细胞活跃增殖的更新速率为 3 天。中间层和表皮层细胞为无活性的分化层。

1.2 液体和酶

尽管缺少腺体，阴道上皮组织通过一层表面膜始终保持湿润。这层膜被认为是阴道的液体，它包含了子宫颈黏液和阴道自身的鳞片状脱落细胞。通过细胞间通道从血管中渗出到阴道腔的渗出液化学成分也进入液体[4]。这种液体包含碳水化合物、氨基酸、脂肪酸、蛋白质和免疫球蛋白（Igs）等[6]。最近鉴别和分析了人体阴道分泌物中的非血清蛋白[7,8]。在发育成熟期，健康女性的阴道环境 pH 为 4～5[9]。这种酸性环境是由乳酸杆菌产生的，乳酸杆菌能够将糖类物质转化为乳酸。子宫颈黏液是阴道液体的主要成分，由子宫颈导管内的腺体产生，其 pH 为 6.5～9。子宫颈黏液的化学成分和物理特性随着女性月经周期的变化而改变，在排卵期可以促进精子的运动。排卵期间，由于子宫颈的分泌物增加，阴道液体的体积也增大。排卵期产生的黏液，拉丝（纤维化）、羊齿样（宫颈黏液干燥时在载玻片上呈羊齿状结晶）、pH、黏蛋白含量都会有所增加[10]，而且黏液黏性、细胞质和白蛋白浓度都会显著减少。

阴道内各种各样的酶对于阴道给药系统的开发是一个值得关注的重要点，特别是蛋白酶以及它们对蛋白质和肽类候选药物的影响[11]。阴道的外细胞层含有大量的葡糖苷酶、磷酸酯酶、α-萘酯酶、辅酶Ⅰ、二磷酸吡啶核苷黄递酶、磷酰胺酶、琥珀酸脱氢酶[9]。基底细胞层同样具有酶活性，含有葡萄糖酐酸酶、琥珀酸脱氢酶、二磷酸吡啶核苷黄递酶、磷酸酶、α-萘酯酶。

除了酶以外，阴道腔还是一个有菌区域，寄生有许多微生物，主要是乳酸菌、细菌、葡萄球菌、表皮菌素和一些潜在致病的有氧菌[12]。这些微生物及其代谢产物对阴道给药制剂的药物阴道稳定性带来了负面的影响。

2. 阴道生理学和动力学

在解剖学上，未受刺激的阴道是一个潜在而非实际的空腔。然而受到性刺激时，阴道会产生由张力引发的解剖形变，这些解剖形变可能会对长效的阴道给药系统产生影响。正如 Masters 和 Johnson 概述的那样，性反应循环期四个阶段的存在反映了阴道的形变[13]。

第一个受刺激的生理反应（兴奋期）迹象是阴道产生润滑液体。当受到有效刺激 10～30s 之内，阴道黏膜表面会出现这种现象。随着性张力的增加，渗出物样黏液物质的单个液滴分散在整个阴道的褶皱壁里，并结合形成一个平滑的包裹层覆盖在整个阴道黏膜表面。这些黏液渗出物是由于阴道内大量的血管充血和静脉丛膨胀导致的。这种“发汗”现象可使阴道全部润滑，阴道腔内部 2/3 的部分被拉长和扩张。当性紧张达到一个平台期时，这个部位的阴道壁会不知不觉地膨胀，随即出现不规则的局部松弛状态。阴道对扩张的需求会逐渐超过松弛的倾向。除了阴道穹隆的扩张，子宫颈和子宫体会慢慢向后移动并进入人工骨盆位置。子宫颈的这种抬高在阴道中部的平面产生了子宫颈深部的“幕状效应”。这种现象通常发生在正常的前置子宫体位（图 4）。生育和未生育妇女，无论其先前阴道是否膨胀和扩张过，在受到性刺激后，子宫颈长度和宽度都会有所增加。

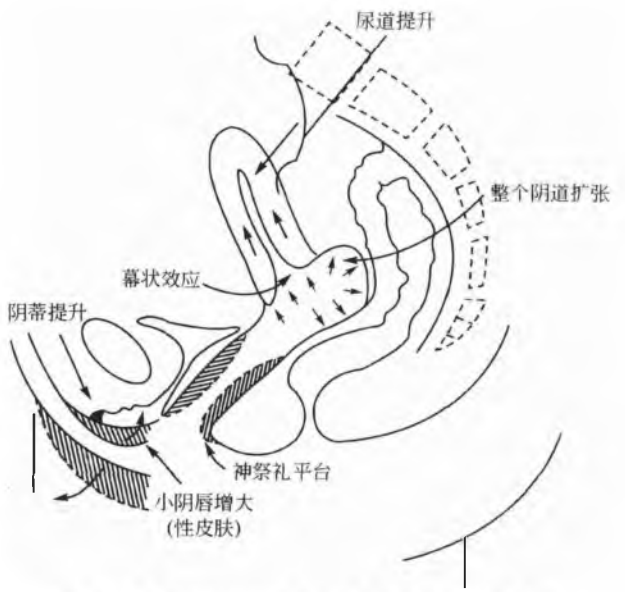


图 4 女性骨盆的纵切面图，示意受到刺激的阴道[13]

随着性紧张到达平台期水平，阴道腔外部的 1/3 都会有明显的集中充血反应。这时整个区域呈明显的扩张状态，充满静脉血，与先前的兴奋期相比，阴道腔中部容积至少减少了 1/3。阴道腔宽度和深度的增加很小。阴道内润滑液体的生成速度也逐渐降低，尤其在经历了一段长时间的性紧张水平之后。

在性高潮期，阴道腔内部基本的特性反应是扩张而非收缩。另外，在兴奋平台期，阴道腔外部的 1/3 区域，血管收缩有规律地、反复地强烈进行。在持续阶段，血管收缩的间间长度及收缩强度逐渐降低。

随着消退期的开始，阴道腔外部 1/3 的区域首先出现衰退的变化。局部性血管充血迅速消失，导致阴道外部 1/3 的腔体中央的直径增加。先前阴道内部 2/3 扩张的腔体也

逐渐收缩，恢复至最初未受刺激的状态。收缩的过程是不规则的，侧面和后壁呈带状松弛。阴道后壁和前置子宫颈迅速下降到阴道底部，导致兴奋期产生的“幕状效应”迅速衰退。

3. 绝经期

人体自然的衰老过程导致阴道出现明显的变化，包括尺寸减小、弹性降低、血管萎缩、黏膜变薄[14]。阴道细胞多变，Steger 和 Hafez 对其中的许多方面进行了阐述[14]。阴道上皮组织层明显变薄，并遭到白细胞侵蚀。该部分只有一层上皮细胞覆盖，暴露出上皮层下的结缔组织。阴道表面鳞片状脱落细胞和微型褶皱大幅度减少。由于胶原质取代了固有层的弹性纤维，因而弹性消失。由于阴道微生物和 pH 的改变，糖原含量低或根本没有。阴道分泌物变少或变稀，pH 从 4.5～5.5 增加到 7.0～7.4。由于嗜酸性有机物数量减少，阴道抵制细菌和霉菌感染的能力下降[15]。绝经期开始时阴道内的酶会增加，如 β-葡糖苷酶、磷酸酶以及一些非特异性的酯酶[14]。

与其他组织不同，阴道受类固醇类物质替代疗法的影响很大，雌激素替代疗法经常用来减轻绝经期症状。绝经后期，妇女阴道上皮组织变薄，渗透性增加，这是在研究药物输送时重点考虑的因素。上皮组织波动的最小化将导致药物吸收的波动减少，而且均会影响全身给药和局部给药。

阴道的吸收

文献中有很多关于阴道吸收的报道。第一次动物实验研究要追溯到 1918 年，当时认为阴道组织特征有简单的三层：结缔组织层、肌肉层和黏膜层，它们共同连接在一起类似皮肤，但没有角质层。最初，阴道被认为是不能渗透外源性物质的一种器官。后来的研究报道开始显示，在一些病例中，阴道吸收外源性物质可以引发毒性甚至导致死亡。狗和猫的动物试验证实，阴道能吸收大量化合物，如生物碱、无机盐、酯、防腐剂等[16]。后来的研究显示，阴道还能吸收氢氰酸、毛果芸香碱、阿托品、胰岛素等化合物[17]。为了让医生对阴道黏膜局部药物治疗的应用有所关注[18]，人们利用家兔、猫和狗，开展了重硫酸奎宁和硫酸羟喹啉的阴道吸收研究。大家认为，药物是单向地从阴道输送到血，而非反方向地传输[19,20]。

一篇详细的综述文献证明了阴道对碳水化合物、脂肪、蛋白质的吸收[21,22]。葡萄糖能被吸收和迅速氧化，首先被证实能阴道吸收的蛋白质之一是花生蛋白[23]。研究显示，阴道对精子和细菌性抗原也有渗透[22]。细菌性抗原在诱发抗感染的局部性免疫机制中起到重要作用。其他类型的化合物有类固醇（雌激素、黄体酮、睾酮激素）、前列腺素、杀菌剂、美沙酮。近年来有报道雌激素和前列腺素可用于阴道给药，而且临床上有制剂使用，如阴道乳膏剂和栓剂。

药物的阴道吸收受理化性质的影响，如药物的相对分子质量、亲脂性、离子化、分子大小、化学性质、局部作用，以及受卵巢生理周期和妊娠影响的阴道厚度等[21]。其他的影响因素还有绝经期阴道上皮细胞和 pH 的变化。药物在吸收前必须先溶解。阴道内的液体可以帮助药物溶解，但是当子宫颈的黏液分泌物较多时，会形成屏障阻止药物从吸收部位吸收[11]。因为制剂在阴道液体中的溶解方式不同，所以制剂的吸收情况也有差异。乳膏剂、栓剂、片剂在阴道内的停留时间不一样。阴道植入剂和乳剂相比，后者与阴道的接触时间更长[24]。

1. 渗透性

药物通过阴道膜的转运主要有三个途径：跨细胞途径，由于存在浓度梯度通过这种方式可产生跨细胞扩散；细胞间途径，即通过细胞间隙扩散；囊泡或受体介导的转运[11,25]。采用家兔模型进行阴道渗透性研究[26,27]，雌性兔子由于没有动情周期，显示其阴道在组织学、生化学、生理学等方面的性质均能保持稳定，而其他大多数哺乳动物却普遍未见这种稳定性[28]。因此，性周期的缺乏可望使阴道膜的渗透性变化最小，这样对药物渗透性能的测定就能够可控且可行[26,27,29]。

人们通过对雌兔阴道连续灌注直链烷醇和烷醇酸，对阴道黏膜的渗透性进行研究[26,27]。与阴道吸收双醋炔诺酮一样（图 5），阴道对烷醇和烷醇酸的渗透遵循一级动力学规律，并取决于阴道内的药物浓度。研究结果与物理模型一样，在这种物理模型中，黏膜层有一个连续的流体扩散层，并且有两个平行通路：脂质通路和水性孔道（图6）。

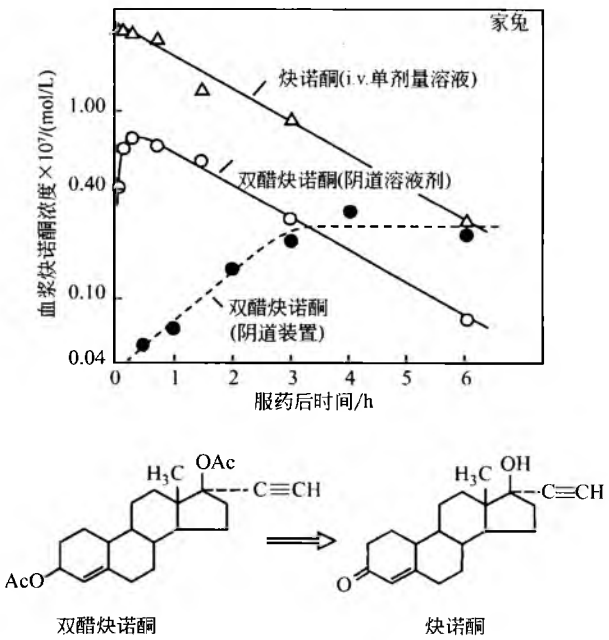


图 5　家兔单剂量静注炔诺酮溶液后的血浆浓度曲线，同时也显示了阴道给予双醋炔诺酮溶液剂和给药装置的吸收[37]

Y

通过血液灌注黏膜层后（浆膜侧）立即形成了一个极好的漏槽。

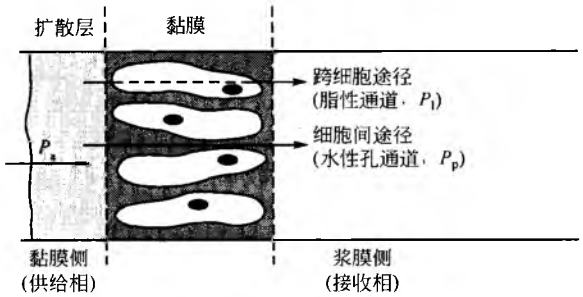


图 6 阴道膜作为转运屏障的示意图[25]

阴道膜渗透的表观渗透系数 P_{app} 用以下公式表达：

$$P_{app}=\frac{1}{\frac{1}{P_{aq}}+\frac{1}{P_v}} \tag{1}$$

或

$$P_{app}=\frac{1}{\frac{1}{P_{aq}}+\frac{1}{P_v+P_l}} \tag{2}$$

因为

$$P_v=P_p+P_l \tag{3}$$

式中：P_{aq}、P_v、P_p 和 P_l 分别为水扩散层、阴道膜、水性孔道和脂质通路的渗透系数。

我们对直链烷醇系列物的阴道渗透动力学进行了研究[26]。以甲醇为参照，得到每个直链烷醇的一个相对渗透系数：P_{app}（alc/MeOH）。直链烷醇烷基链的长度增加，相对渗透系数值也增加（表 1）。渗透性能的增加可能是由于脂质通路中渗透系数有所增加造成的［式（2）］。据估计，每增加一个亚甲基，直链脂肪醇的 P_l 值相应增加 2.5[26]，而直链烷醇酸系列物则增加 3.5[27]。

表 1 烷基的长度对直链烷醇校正渗透系数的影响[1)]

烷醇	甲醇	丙醇	丁醇	戊醇	己醇	庚醇	辛醇
$CH_3(CH_2)_nOH$	$n=0$	$n=2$	$n=3$	$n=4$	$n=5$	$n=6$	$n=7$
P_{app}（烷醇/甲醇）[2)]	1.00	1.11	1.13	1.20	1.48	1.91	2.15

注：平均值是 pH 为 6.0 和 37℃条件下三只兔子的均值。

1）数据见参考文献［26］。

2）校正渗透系数＝P_{app}（乙醇）/P_{app}（甲醇）。

离子类化合物的阴道吸收，如 *n*-烷醇酸系列物，其表观渗透系数 P_{app} 取决于 pH，如式（4）所示：

$$P_{app}(n,\mathrm{pH})=\frac{1}{P_{aq}(n)}+\frac{1}{\frac{[H]}{K_a+[H]}P_l^0 10^{n\pi}+P_p} \tag{4}$$

式中：n 为链中亚甲基（CH_2）的数目；［H］为质子浓度；K_a 为酸的解离常数；P_l 为设想的无碳原子酸（$n=0$）脂质通道的渗透系数；π 为亚甲基增加的常数，直链烷醇酸中亚甲基增加的常数是 3.5。

就像早期报道的烷醇系列同系物，烷醇酸的校正渗透系数取决于烷基链的长度（表 2）。此外，直链烷烃的标准渗透系数呈现 pH 依赖性[27]。需要指出的是，兔子阴道分泌物的有效 pK_a 值在 6.3±0.1，但是其阴道分泌速率小，所以表面的 pH 为 2.0～2.1[30]。这种 pH 的酸性表面影响了 *n*-烷醇酸的解离程度，从而影响到 P_l、P_{app} 的大小［方程式（3）］。

表 2 烷基的长度和 pH 对直链烷醇酸的校正渗透系数的影响[30]

酸	P_{app}（酸/甲醇）[1)]		
	pH 3	pH 6	pH 8
乙酸	1.22	0.73	0.25
铬酸	1.62	1.94	0.34
己酸	1.89	2.06	0.81
辛酸	1.74	2.49	1.24
癸酸	—	—	1.26

注：不同兔子在相应 pH 条件下所得实验数据的平均值。

1）校正渗透系数＝P_{app}（酸）/P_{app}（甲醇）。

有人对类固醇的阴道吸收进行了研究[31]，其渗透特性也符合一级动力学规律[31]。类固醇的标准渗透系数似乎与结构有关（表 3）。跨阴道膜的渗透系数（P_v）也同样显示出与结构相关的趋势；亲脂性的类固醇（雌激素酮、黄体酮）比极性类固醇（氢化可的松、睾丸激素）更容易吸收。但是这四种类固醇的水扩散层渗透系数 P_{aq} 值非常相近（表 3）。对于高 P_v 值的药物，像黄体酮和雌激素酮（6.1×10^{-4}～7.6×10^{-4} cm/s），阴道吸收主要受阴道黏膜表面水扩散层的渗透能力的控制（$P_v>P_{aq}$）。相反，对于低 P_v 值的药物，像睾丸激素和氢化可的松（5.8×10^{-5}～7.5×10^{-5} cm/s），其阴道吸收主要由分子通过阴道膜的渗透能力来决定（$P_{aq}\gg P_v$）[32]。家兔上皮细胞的体外试验显示，黄体酮的阴道渗透性和其亲脂性成线性相关[33]。

表 3 类固醇的阴道渗透参数[31]

类固醇	P_{app}[1)]	$P_v\times10^4$/（cm/s）	$P_{aq}\times10^4$/（cm/s）
雌激素酮	1.00	7.60	2.81
黄体酮	0.93	6.10	2.80
睾丸激素	0.29	0.75	2.76
氢化可的松	0.23	0.58	2.79

1）标准渗透系数＝P_{app}（类固醇）/P_{app}（甲醇）。

表观渗透系数 P_{app} 与阴道中药物的一级动力学消除常数 k_v 有关，如式（5）所示：

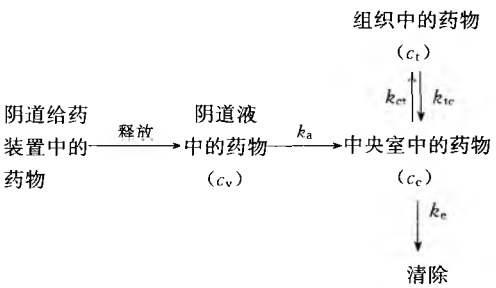
$$P_{app}=k_v\frac{V_v}{S_v} \tag{5}$$

式中：V_v 为阴道内液体的体积；S_v 为阴道腔的几何表面积。

另外，对家兔进行阴道导电性能测试，以及用亲水性荧光素探针 6-羧基荧光素进行流量测试，同样可以研究阴道的渗透性[34]。通过 KCl 的扩散能力和电荷识别能力的测试，也可以对膜渗透的选择性进行研究。荧光素探针是通过细胞旁通路进行渗透。6-羧基荧光素的渗透力按以下顺序排列：肠道≈鼻腔≥支气管≥气管＞阴道≥直肠＞角膜＞口腔＞皮肤。渗透的选择性是负向的，也就是说，K^+ 比 Cl^- 的渗透能力大。研究发现，所有的组织类型其渗透选择性都相同。利用低相对分子质量的聚乙烯醇进行试验发现，大鼠阴道上皮组织所截留的相对分子质量比其他组织表面更大，如胃肠道[35]。有人采用杀精子剂和壬苯醇醚-9 对阴道的渗透趋势进行了评价[36]。用小羊阴道黏膜进行试验发现，渗透性和壬苯醇醚-9 低聚体之间成线性相关，这表明脂质通道对这一成分的渗透具有重要性。

2. 药代动力学

如果阴道腔内的药物从阴道给药制剂中释放后，其吸收、分布、消除遵循药代动力学的规律，即



那么中央室中药物浓度变化的瞬间速率可以用方程式（6）表达：

$$\frac{d(c_c)}{dt} = k_a c_v + k_{te} c_t - (k_{et} + k_e) c_c \qquad (6)$$

式中：k_a、k_e、k_{et} 和 k_{te} 分别为吸收速率常数、一级动力学消除常数和中央室/组织交换常数；c_v、c_c 和 c_t 分别为阴道周围组织液中的药物浓度、中央室中药物浓度和组织中药物浓度。

药物从给药系统中释放后在阴道吸收，可以由一级吸收的简单的一室开放模型进行描述（图 5）[37]。利用这个简单模型，方程式（6）可以简化为方程式（7）。

$$\frac{d(c_c)}{dt} = k_a c_v - k_e c_B \qquad (7)$$

式中：c_v 和 c_B 分别为药物在阴道和体内（包括血液、组织，以及与药物交换相关的室）的浓度。

在稳态下（图 7），体内药物浓度变化相对较小，$d(c_B)/dt \approx 0$。例如，在时间 t 时，双醋炔诺酮（Q）的主要代谢产物——炔诺酮 c_B 的体内浓度与 Q 的释放量有关，如方程式（8）所示。

$$c_B = \frac{k_a \sum R_2 v}{2k_e} \left(\frac{Q}{t}\right)_v \qquad (8)$$

式中：$\sum R_2 v$ 为穿过阴道壁的总的扩散阻力。方程式（7）表明，如果药物在阴道内有一段持续时间的滞留 $(Q/t)_v$，那么每个试验动物体内炔诺酮的浓度（c_B）应该与从阴道制剂中释放的 Q 的数量成比例。从 c_B 比 $(Q/t)_v$ 作图的斜率，以及溶剂中同一药物的阴道吸收的 k_a 和 k_e 值中，可以计算 R_v 的大小和阴道渗透的总扩散阻力。

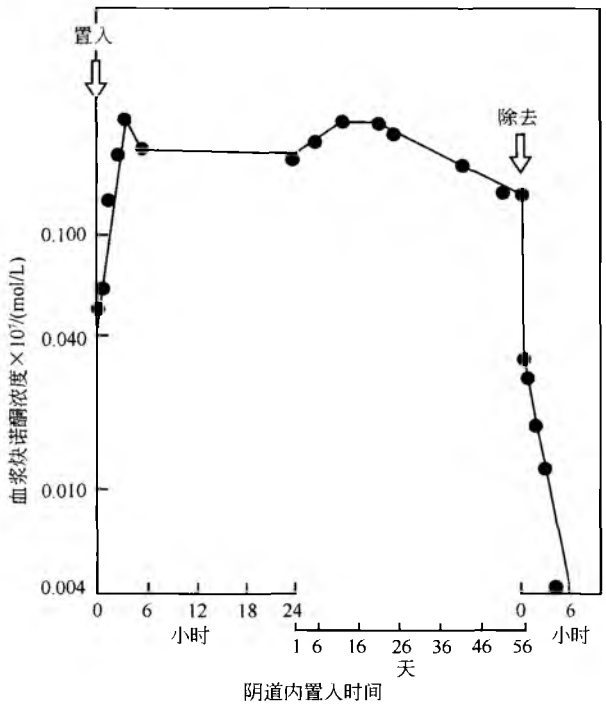


图 7　家兔阴道内置入双醋炔诺酮装置 56 天和除去后的血药浓度曲线[37]

3. 影响药物通过阴道黏膜的生理因素

3.1　黏液：成分、特性及作用

阴道黏膜的上皮细胞表面覆盖一层黏液，当具有生物黏附特性的给药制剂插入阴道时与之接触。黏液是一种不均匀的分泌物，对上皮细胞能起到保护和润滑的作用。正常妇女的黏液由子宫颈以 20～60mg/天的速度产生。在月经中期，速度增加到 700mg/天[38]，并且黏液黏性降低，微结构膨胀，有利于精子的穿透[39]。

要了解黏液的性质，就需要了解黏液亚单位的基本生化成分——糖蛋白的结构[40,41]。糖蛋白的分子质量为 320～4500Da，通过二硫键与其他亚单位连接，并且通过离子键合和缠结与其他亚单位相互作用，特别是与低聚糖链末端的唾液酸相互作用[42]。除了糖蛋白，子宫颈黏液还含有很多物质，如血浆蛋白、酶、氨基酸、胆固醇、脂质、无机盐等，这些物质的浓度在生理周期中会不断发生波动[43]。有人提出，大分子物质与血凝素样的物质的缠绕构成了子宫颈黏液的性质[44,45]。固有黏度、整个黏液

的相对分子质量以及它们的亚分子结构和T区的关系显示，黏液具有类似坚硬无规则螺旋状的柔顺线性大分子结构[46]。

利用较厚的子宫颈黏液可以阻止精子的通过，这已经作为了避孕的一种手段。低剂量的口服避孕药绝大多数是靠这种作用来发挥其节育药效的[47,48]。连续口服的避孕药不会对黏液产生影响，如雌激素，而且它们甚至可以提高精子的渗透性。

3.2 子宫颈黏液黏性的改变

宫颈黏液生化性质的变化导致其流变学行为发生了变化，以及对各种外源性物质的接受发生了改变[49]。黏液液化可以通过机械破碎、系统循环稀释或化学试剂，如黏液蛋白等进行调节。研究表明，子宫颈黏液物理和生理性质的变化可能会改变药物通过宫颈黏液的渗透性[50]。由于在卵子成熟和获能期间，胞浆膜会发生显著变化，所以分析化合物在生化水平的性质，对于了解黏液黏性引起渗透率变化是至关重要的[51]。离子强度的增加和黏液稠度的增加，都能更好地促进外源性化合物的渗透，同时提高电荷的水合程度[52]。

黏液与钙的结合会影响黏液的黏性，这种结合可能来自于黏蛋白中的唾液酸与离子的相互作用[44]。这些变化可以通过宫颈黏液的pH、黏弹性质、水、蛋白质含量的变化而显示出来[53]。要形成细胞间的联系以及子宫颈上皮细胞之间的紧密连接组织，钙离子是必需的[54]。细胞外钙离子浓度的变化会影响紧密连接组织的渗透性，在调节宫颈黏液的生成方面起到重要作用[55]。子宫颈中前列腺素的浓度会影响宫颈黏液的黏性，从而影响子宫颈的柔软度[56]。也有研究报道了二硫苏糖醇（DTT）对宫颈黏液的影响[57]。所以，宫颈黏液的物理和生理特性可以反映出当子宫颈暴露于外源性底物，或者进行激素替代疗法时，大分子化合物的组成，或者其成分浓度的改变[58]。例如，人们所熟知的，当美雌醇（或乙炔基雌二醇）与炔诺酮或其乙酸盐随同给药时，宫颈黏液的生理特性和精子的游动能力都会受到严重影响[59]。

3.3 宫颈黏液蛋白组成的改变

人体子宫颈黏液含有1%～3%的蛋白质，其中主要的可溶性蛋白是白蛋白和球蛋白[60]。人们研究了不同物质对蛋白组成的影响[61]。当纯化的糖蛋白遇到各种糖蛋白水解酶时它会被降解，子宫颈黏液通过负电荷的相互排斥，以及分泌物的黏性和稠度的加强，其电荷升高而变得坚硬[62]。很显然，个体黏液黏弹性的月经周期性变化是由于黏蛋白浓度发生了周期性变化造成的[63]。这种现象是由于在排卵期和黄体期蛋白数量都有所减少的缘故[64]。另外，根据个体黏弹性和黏蛋白之间的不同相关性可以看出，个体的黏液成分也有差异[65]。

将壬苯醇醚-9与EDTA有效结合，研究结果显示，其杀灭精子的活性明显增强[18]。这种现象可能是因为加入螯合剂EDTA，局部移除了钙离子，这样可能会使钙离子介导的调节蛋白的脱磷酸降低，从而进一步引起宫颈黏液蛋白质总量和成分的变化。宫颈黏液成分的本质，特别是蛋白质和酶类，需要通过更深入的研究来阐明宫颈黏液调节外源性物质渗透速率的机制。蛋白质成分的改变可能会影响宫颈黏液中酶的活性，从而进一步影响阴道给药系统中药物的稳定性和渗透速率[66]。

3.4 生理周期的变化

如前所述，由于家兔缺乏动情周期，因此是研究阴道黏膜渗透的理想的动物模型。但是，雌兔不适合用来研究长期的阴道吸收，因为它缺乏像人体阴道那样随月经周期激素呈规律性改变的典型的周期性变化。妇女在卵巢周期雌激素进行循环分泌，导致阴道的组织学、生物化学和生理学发生改变，因此阴道黏膜的渗透性也随之发生相应的变化。

短尾恒河猴有大约28天的卵巢周期，同妇女接近，而且其动情周期与妇女的月经周期也很相似。研究者一致认为，在人的生殖领域，恒河猴与人类有相同的解剖构造和生理特性，也同样具有相似的生殖功能[67]。因此，研究为妇女设计的阴道制剂中不同药物的吸收情况时，恒河猴是最理想的动物模型。

小分子和大分子的阴道吸收情况显示了动情周期对阴道黏膜渗透性的影响。小分子，如甲醇，具有阴道控膜型渗透；大分子像*n*-辛醇，其渗透受流体扩散层的控制（图8）。采用完整猴和卵巢切除的猴进行更深入的研究，其结果并未显示月经周期和阴道膜渗透性之间有任何系统性联系[68]。关于青霉素在人[69,70]和大鼠[71,72]的阴道中的吸收情况的研究报道存在矛盾。

在月经期，猴的阴道渗透性比无月经周期的家兔更低（图9）。对于亲水分子，像短链烷醇（例如，甲醇），恒河猴和家兔之间阴道吸收的差异更明显，因为这些分子的渗透性是由阴道膜的渗透性来控制。随着链烷醇类烷基链长度的增加，分子的亲水性减小，亲脂性增加，这种差异则减小。在排卵期，恒河猴的阴道渗透速率比无月经周期的家兔低几倍[31]。

在恒河猴身上观察到阴道渗透性的周期性变化与性周期的规律循环有关，这表明由恒河猴得到的阴道吸收数据可能比人更能反映出实际情况。因此，恒河猴成为人们研制阴道给药制剂的理想的动物模型。

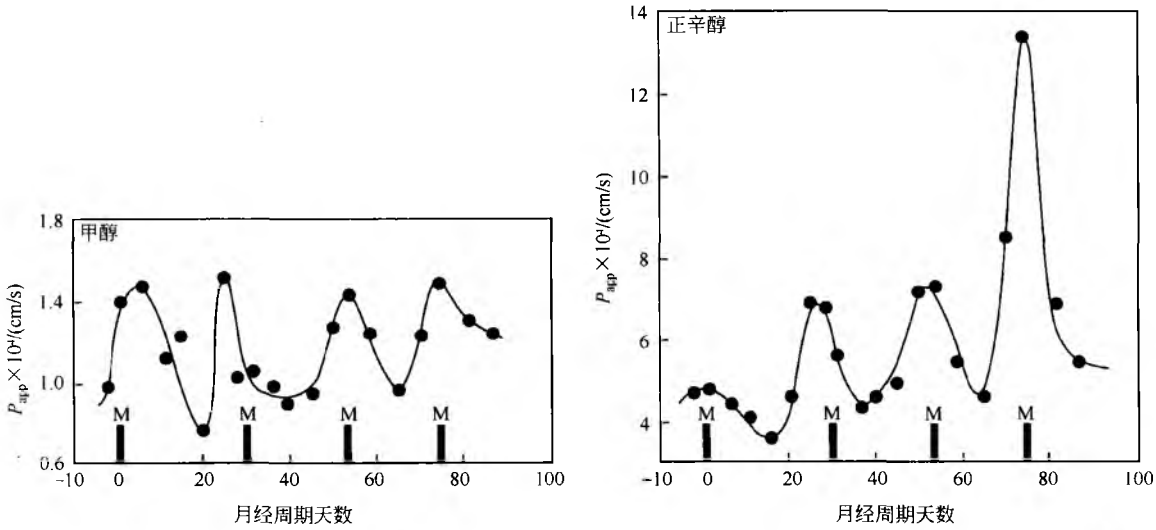


图 8 雌性恒河猴伴随动情周期的甲醇与正辛醇表观渗透系数 P_{app} 的周期性变化，棒图表示观察到月经周期的开始[31]

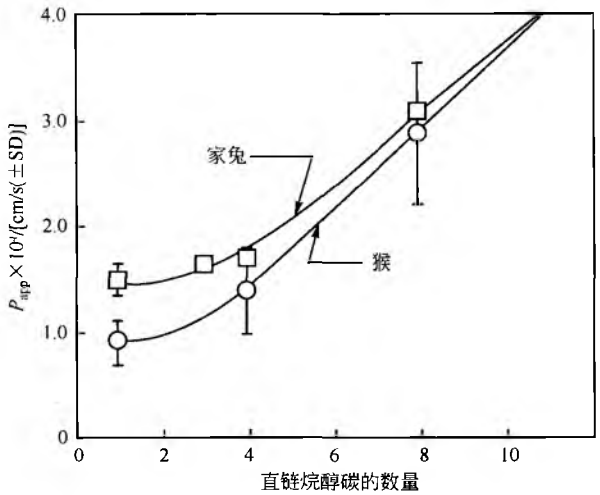


图 9 无月经周期的家兔和有月经周期的恒河猴阴道吸收直链烷醇的表观渗透系数的比较[16,165]

阴道给药系统的类型

1. 人体用药

一些文献报道了许多现已上市或正在开发的阴道给药制剂的类型[73,74]。在阴道制剂的研发过程中，以下因素应该予以考虑[73]：

- 阴道上皮组织最佳 pH 环境的保持；
- 使用的便利性；
- 药物的均匀分布；
- 药物在阴道内的滞留时间；
- 同时给药的相容性。

另外，不适的气味、颜色、组织刺激、性交疼痛都是不希望的。阴道制剂全身给药的一个关键性优势在于可以避免口服药物在进入全身系统前被消除。供血给阴道组织和直肠的会阴静脉丛，流经阴部静脉，最后流入已在肝脏循环完毕的大静脉，这一点与胃肠道有明显区别。胃肠道的血液循环汇入肝门静脉，并在进入全身循环之前直接经过肝脏。对于那些对胃肠道有刺激的药物，以及针对阴道疾病进行局部治疗且需要全身吸收小的药物，阴道给药是更好的途径。

1.1 乳膏剂、泡沫剂和凝胶剂

许多非处方的阴道给药产品都使用这些制剂。普通的产品包括避孕乳膏、泡沫剂、凝胶剂、栓剂、海绵剂和薄膜等，其中含有杀精子成分，如壬苯醇醚-9 或辛苯昔醇。最近，FDA 批准了治疗酵母菌感染的非处方药阴道给药产品[75]。为了治疗绝经期症状，人们开发了诸如阴道乳膏的雌激素产品。对于绝经后妇女，最近研制了一种新产品——Replens®，可以作为阴道黏附性增湿剂。研究结果显示，它作为雌激素阴道乳膏在增加阴道潮湿度、液体体积、弹性、恢复绝经期前 pH 状况等方面是安全的和有效的[76]。低 pH 的乳酸盐凝胶已经被用来治疗细菌性阴道炎。使用这些凝胶，可以消除阴道的异常恶臭和排泄物，恢复阴道正常的酸度，并促进正常乳酸菌的再生。一些抗菌剂通过阴道给药进行阴道的局部治疗，比口服更有优势，尤其是在怀孕期[77]。

阴道环与阴道乳膏相比，前者可以连续低剂量地给予雌二醇。这两种制剂在治疗绝经后妇女伴随有阴道萎缩症状的疾病时，都具有相同的疗效和安全性[53]。

1.2 阴道环

通过阴道环，可以将具有药理活性的物质以控释速率输送至系统循环。阴道环发展到今天，主要是用来避孕，这种应用在文献中已有报道[74,78]。采用阴道环给药的药物有甲羟孕酮乙酸酯（MPA）[79~85]、雌二醇[53,58,86,87]、炔

Y

诺孕酯[88,89]、左炔诺孕酮[90~94]、黄体酮和雌二醇组合药物[95]、黄体酮和雌激素组合药物[96~101]。另一个人们感兴趣的应用领域就是研制前列腺素控释制剂，可以用它来促进子宫颈成熟，以及用来进行人工引产或终止妊娠[102]。

阴道控释制剂相对于传统口服制剂的优势在图 10 中有很好的表示。当 MPA 口服吸收后，血药浓度在 2h 内迅速达到峰值，在接下来的 22h 内衰减。另外，阴道环的 MPA 阴道控释制剂在 4h 内达到一个稳态的血药水平，并且在整个治疗过程中都一直维持这个血药水平，直到将阴道环移去。通过阴道黏膜连续“灌注”药物，可以避免肝脏可能产生的首过效应，以及间歇性服用口服制剂，造成血药浓度水平呈现波峰、波谷交替产生的无治疗性[31]。雌二醇阴道环已经显示出它是安全有效的，同时比阴道用栓剂更舒适[103]。已有研究报道说，对于绝经后妇女，采用阴道环、阴道乳膏剂、栓剂等局部给予雌二醇，可以减轻生殖道雌激素缺乏症状[53,58]。有关病例显示，相比于其他阴道制剂，患者更倾向于选择阴道环。达那唑也是一种通过阴道环进行给药的阴道制剂，在治疗子宫内膜异位症方面显示具有相当确切的疗效[104]。达那唑通过阴道黏膜被吸收，并通过扩散能深深浸润子宫内膜。

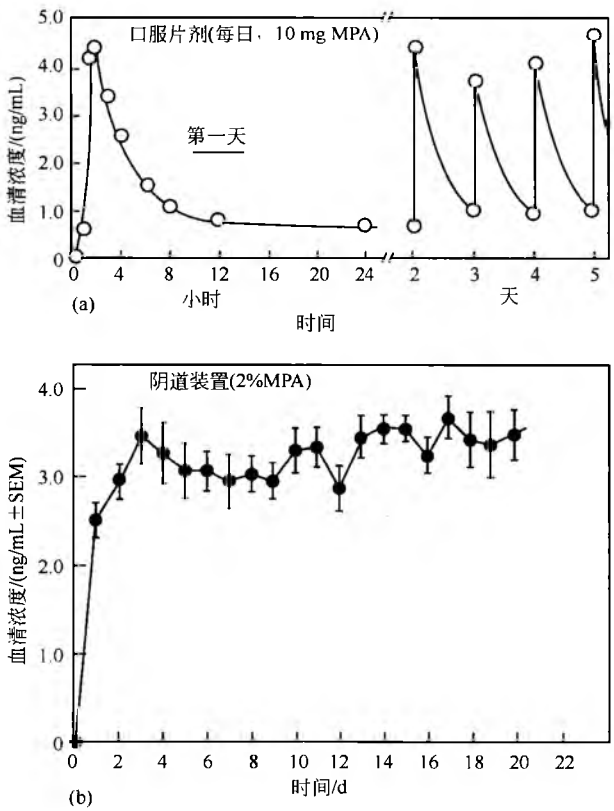


图 10 (a) 健康妇女早餐前服用乙酸甲羟孕酮片剂10mg，连服 5 天后血清中药物浓度；(b) 妇女使用乙酸甲羟孕酮医用硅酮阴道环（2%乙酸甲羟孕酮）20 天的日血清药物浓度[53]

阴道环由生物相容的硅橡胶组成，含有一个无药核心环和一层含药包衣层。阴道环插入后定位于子宫颈周围。那些为避孕设计的制剂可以在子宫颈处保留 21 天，并且在月经流期间可以移走 7 天。由于阴道经常出现不规则流血，人们重新研制了阴道环。新开发了三明治形阴道环。这种具有药物分散的硅树脂聚合体骨架，外面包被不含药的硅树脂聚合膜。这种设计可以降低药物的突释，而这种突释是使用避孕阴道环治疗的第一次月经周期常见的一种现象。图 11 显示了包被层对 *d*-炔诺孕酮释放曲线的影响，这种影响表明，添加了包被层，能减小或消除药物的突释效应，并使药物的非零级释放曲线转化为零级释放。黄体酮和雌激素组合的阴道双重制剂的思路已经运用于组合避孕阴道环的开发中。这种新的设计（图 12）由两个药物储库构成，

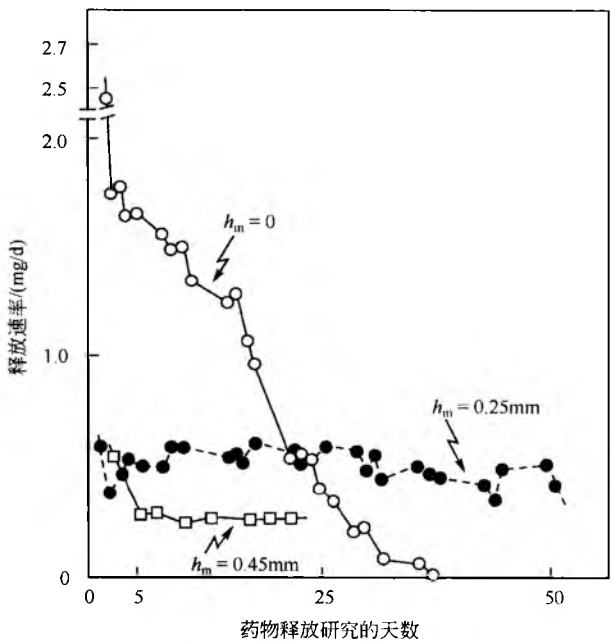


图 11 *d*-甲基炔诺酮均匀分散于硅聚合物骨架中的阴道环（○）与储库外用惰性层包衣的阴道环（●和□）的体外释药速率曲线的比较。图中还显示了包衣层厚度 h_m 对药物释放的影响[25]

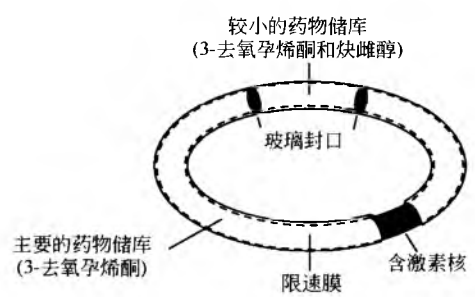


图 12 含有 3-去氧孕烯酮和炔雌醇的避孕阴道环的结构示意图[67]

主要的储库是一个含有 3-去氧孕烯酮的载药核心，另外一个较小的储库是一个包含 3-去氧孕烯酮和炔雌醇（一种合成的雌激素）组合物的药核。这些药物储库被两个类固醇不能渗透的玻璃闭包分隔开，通过一个限速硅橡胶膜以恒定的速率释放类固醇[98]。图 13 显示了 3-去氧孕烯酮和炔雌醇从两个原型阴道环中释放的血清曲线。

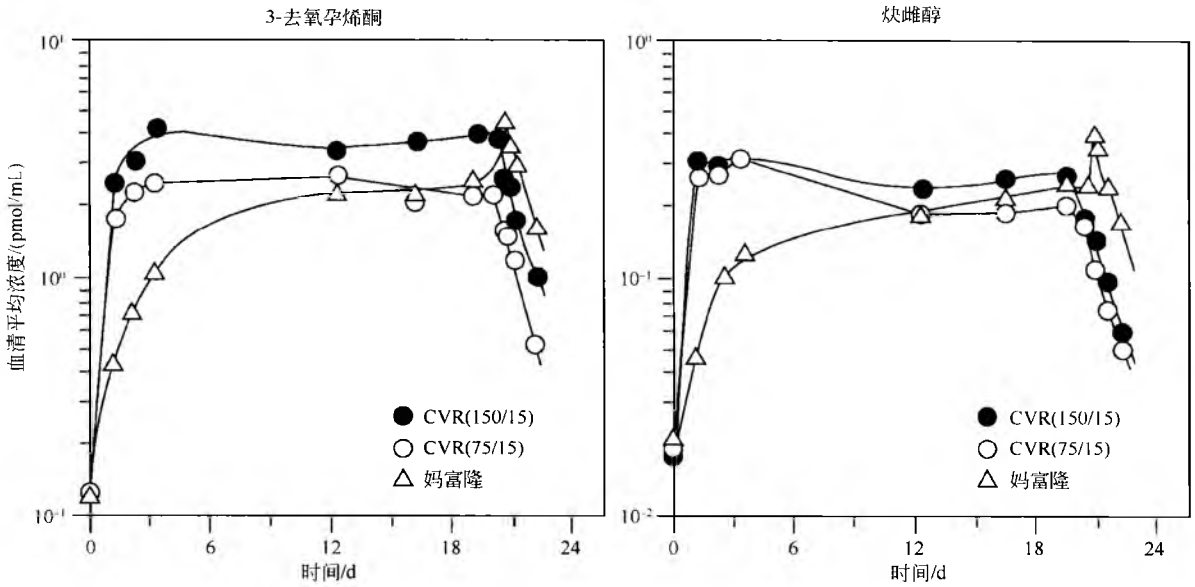


图 13　两种避孕阴道环原型［CVR（150/15，3-去氧孕烯酮/炔雌醇）和 CVR（75/15，3-去氧孕烯酮/炔雌醇）］连续阴道内使用 21 天后，3-去氧孕烯酮和炔雌醇的血清平均药物浓度曲线，图中还显示了妈富隆（Marvelon）口服片的曲线[67]

2. 兽医用药

2.1　阴道栓剂

在动物的饲养管理中，阴道制剂已经作为一种工具，可以有效地控制羊和牛的动情周期。兽群动情周期相同步，可以减轻农夫和农场主的管理压力。一种有效的母羊排卵抑制剂——乙酸氟孕酮，已经制备成阴道栓剂用于绵羊身上。这种阴道栓可以在绵羊体内放置大约 15 天。栓剂移走 2～4 天内，绵羊仍然可以在这 2 天内恢复动情和排卵。所有的绵羊在两天内都可以受精，并且成功率很高。已经上市的阴道制剂有 S. D. Searle & Co. 公司的 Syncro-Mate 阴道栓剂、Intervet S. A. 公司的 Chronogest 阴道栓剂，以及供牛奶场的牛使用的 PRID 阴道植入剂，制剂中含有黄体酮和苯甲雌二醇。阴道用海绵体已经被应用来评价母羊排卵前促性腺激素的释放[105]。

2.2　改良的阴道用栓剂

Syncro-Mate 黄体酮阴道栓剂为黄体酮分散（像乙酸氟孕酮）在由多孔聚氨基甲酸乙酯海绵构成的阴道栓中。栓剂很容易插入阴道，并按照预定的时间移除掉。为了减小载药量，阴道栓经重新设计后克服了骨架型释放和吸收的缺点，并提高了系统的生物利用度。有人研究了一种圆柱状的释药型聚氨酯阴道海绵（外面包被含硅酮骨架的乙酸氟孕酮薄片）和一种被膜的释药型硅酮，并对二者进行了评价[106～108]。

系统本身进行了改进，人们在对其进行体内和体外释放速率的研究。研究发现，含药的硅橡胶层需要和阴道壁接触。硅橡胶包衣层不能导致足够的释放速率。同时，随着含药硅树脂层表面积的增加，药物的释放速率提高。通过这种努力，人们设计了两种新型栓剂（图 14）。这两种制剂都是利用阴道栓中的聚氨酯海绵作为机械支撑物，帮助制剂在阴道内的植入和滞留。但是，从药物储库多孔的海绵体骨架变成片型的包裹有环形海绵的控释硅橡胶装置。Ⅰ型控释硅橡胶装置包含一个可以均匀分散药物的硅橡胶聚合体骨架。Ⅱ型装置药物释放聚合体骨架是三明治形，在两片硅橡胶聚合膜中形成一个三层的薄片层。

3. 未来的发展：生物黏附制剂

在新型的阴道给药系统中包括了使用的生物黏附材料。化合物的生物黏附特性，如水凝胶，可以提供一个控释系统，延长药物在阴道内的滞留时间，同时促进与阴道的直接接触。一些阴道给药产品中使用了许多亲水性的聚合体和水凝胶，如淀粉、胶原、蛋白质、明胶、纤维素衍生物（羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素钠）[77]。报道应用于阴道给药的两种合成水凝胶是聚氧乙烯和聚丙烯酸。生物黏附被认为是水凝胶和阴道黏膜表面的一种最初的相互作用，需要组织表面和聚合体表面的极性能相配[109]，随后通过水凝胶的聚合体链，能与黏膜表面产生相互渗透。

Y

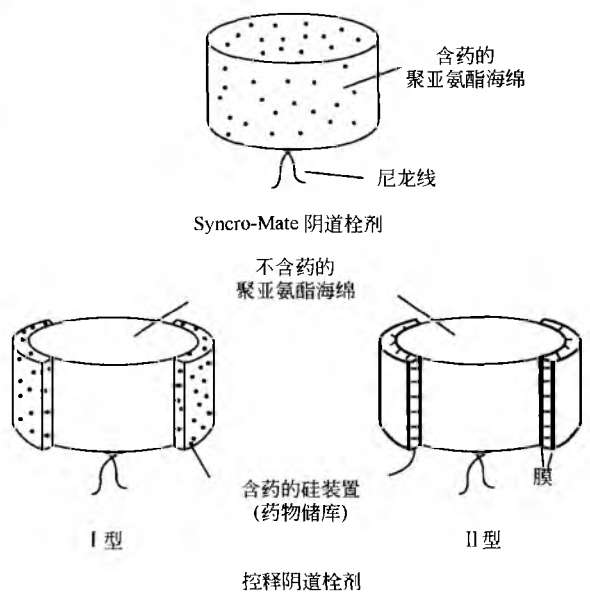


图 14 较新的黄体酮释放阴道栓（Ⅰ型与Ⅱ型）与较老的 Syncro-Mate 阴道栓剂的设计[25]

一篇有关阴道黏附制剂的文献显示，生物黏附片已经被用来进行阴道组织疾病的局部治疗[77,109]。例如，博来霉素，一种抗肿瘤成分，被置于由羟丙基纤维素和聚丙烯酸（卡波姆 934）[110]组成的一个扁平状的圆盘物中。这样设计片剂后可以减缓博来霉素的释放速度，并减小对正常组织的刺激。另外一种阴道片由丙烯酸和羟丙基甲基纤维素及乙基纤维素组成[111]。其他用来提高阴道制剂生物黏附性的聚合复合物有聚丙烯酸和以微晶纤维素 PH102（甲基纤维素）为稀释剂的羧甲基纤维素钠[112]。有人研制了交联的聚丙烯酸胰岛素凝胶，研究发现，用四氧嘧啶诱导的糖尿病型大鼠和家兔，其阴道表面有很好的吸收[113]。

尽管有关生物黏附性乳剂的报道很少，但是有人用它研制了抗真菌制剂[78]。鼻腔和口腔用药的生物黏附微粒在阴道给药系统研究中具有更大的发展潜力。利用黏膜黏附的透明质酸苯甲酸酯制备成微球，用于鲑降钙素的大鼠阴道给药[114]。作为增湿剂并能在阴道内保留 2～3 天的产品——Replens®已经上市，其中含有生物黏附性的交联聚卡波非[115]。在杀精子的临床用阴道给药制剂中，卡波姆 934 聚合物是一个很好的生物黏附候选材料[44]。

脂质体，一种新型给药制剂，广泛地应用于局部疾病的治疗，包括阴道疾病等。很早就有研究报道说，在避孕系统的应用中，黄体酮[116]和 α-干扰素[117]（或甲硝唑）的脂质体[118]能够用于治疗生殖器乳突淋瘤病毒的感染。

阴道给药的候选药物

1. 抗菌剂

抗菌剂，以及抗真菌剂，是治疗阴道疾病的重要候选药物，如治疗细菌性阴道炎。早期有关抗菌剂（如青霉素和磺胺）的研究已有报道[22]。人们对一些药物的药效进行了评价，如甲硝唑[119~121]、克林霉素[122,123]、芬替康唑[124]和克霉唑[124,125]等。甲硝唑在临床上用于阿米巴病、滴虫病、贾第虫病和厌氧菌感染[121]。在治疗细菌性阴道病时，甲硝唑被制成阴道用凝胶剂，每 12h 用药一次，每天 2 次，连续 7 天。凝胶产生很低的血药浓度，所以全身的副作用很小[119]。甲硝唑的脂溶性低故其阴道吸收很小[120]。甲硝唑阴道制剂与口服薄膜包衣片相比，研究结果显示，阴道制剂的最大血药浓度足以杀灭最敏感的厌氧菌[121]。最近的一项研究证实，甲硝唑脂质体可以作为新型的给药制剂，用于治疗阴道感染[118]。

克林霉素也可用于治疗细菌性阴道炎。其 2%浓度的乳膏剂与口服甲硝唑的药效相当[122]。根据服药物次数测定克林霉素的服药量，研究结果显示，全身血药浓度水平低于静脉给药[123]。庆大霉素是另外一种氨基糖苷类抗生素，采用去势大鼠模型可以进行评价[126]。吸收促进剂的作用顺序为：1%棕榈酰肉碱＞0.5%溶血磷脂酰胆碱＞1%聚乙二醇单十二醚-9＞10%柠檬酸引起阴道上皮细胞脱落的严重程度，溶血磷脂酰胆碱＝聚乙二醇单十二醚-9＞棕榈酰肉碱＞柠檬酸。

由于 OTC 市场的需求，近几年对于阴道念珠菌感染疾病的治疗，市场上进行了重新调整。最近，口服抗真菌药，如酮康唑，已被获准用于治疗阴道念珠菌感染。早期关于阴道用芬替康唑与口服克霉唑[125]的比较研究，以及阴道用克霉唑与口服氟康唑[100]的比较研究表明，这两种途径的制剂有同样的效果，而且与所比较的口服制剂一样，具有很好的耐受性。在选择口服和阴道用制剂时，需要慎重考虑的是口服制剂在怀孕期禁用，在这种条件下，阴道制剂是最好的选择[127]。

2. 抗肿瘤药

近几年，阴道给药局部治疗宫颈癌已经取得了很大的进展。人们对［^{3}H］-芬替康唑在正常宫颈黏膜、宫颈癌和复发性阴道念珠菌感染等方面的治疗进行了评价，研究结果发现［^{3}H］-芬替康唑能避免患者的治疗风险[128]。对于那些患有阴道横纹肌肉瘤以及手术和化疗后患有阴道疾病后遗症的患者，人们使用含有铱[192]的阴道模型，研究其高剂量放疗的疗效[129]。个体化的模型由快速定型的硅橡胶泡沫制成，含有铱金属件。治疗后的患者恢复很好，无病状态维持了 7 年。有人对家兔和人进行了环吡酮胺的药代动力学评价。有研究发现，阴道的吸收率很低，而且在深层组织中出现有药物的渗透。这些结果说明阴道有很好的局部和系统耐受性[130]。有人研制了顺铂的阴道栓剂[131]。为了达到有效的局部化疗作用，锡铂在肿瘤表面的渗透率需要进一步提高。

与肿瘤治疗相反，宫颈癌的治疗与阴道栓剂的使用有关。综合许多癌症的病例情况发现，肿瘤发生在环插入的部位。尽管不排除化学致癌物的可能性，但是慢性局部感

染可能是主要的病因。近年来，由于采用更加先进的外科技术和并发症小的辐照治疗，严重的肿瘤病例已经有所降低[132]。

3. 前列腺素

前列腺素，主要是前列腺素 E_2（PGE_2），人们将它作为促子宫颈成熟、引产和堕胎药已经研究了很多年。大多数的前列腺素给药系统是开发成栓剂[133~143]。最近，人们将前列腺素作为手术堕胎的替代药物，进行了前列腺素栓剂和凝胶剂的开发研究。

早期的 PGE_2 制剂是一种易膨胀的由交联聚合物水凝胶制备的缓释栓剂[143]。后来的研究是采用半晶体的聚环氧乙烷和聚乌拉坦，并含有 PGE_2 水溶液的膨胀水凝胶[144]。PGE_2 的控制释放和宫颈评分呈线性关系，这表明控制 PGE_2 的释放在促宫颈成熟方面具有优势[145]。栓剂在引产[146]时发挥更好的控释作用（比阴道凝胶更有利[147]），具有较高的疗效和较低的副作用[148]；同时研究还表明，它可以有效降低由缩宫素注入引起的人工破水时采用剖宫手术的概率[149]。尽管有研究显示 PGE_2 能促使主动产程，减少对缩宫素的需求，但可能会对子宫产生刺激，或者造成胎儿心律失常，不过这种现象可以通过移走栓剂而得到恢复[150]。PGE_2 片剂显示出更好的化学稳定性和更高的性价比[151,152]。另外，对门诊患者使用这种制剂的调查结果显示，PGE_2 可以安全且有效地缩短妊娠推迟期[153]。

此外，PGE_2 已经被开发成凝胶剂。与片剂相比，以甘油乙酸酯为基质的凝胶剂有更好的作用[154]。PGE_2 凝胶可以使分娩妇女的子宫膜自发破裂，明显提高分娩速度，同时不会影响剖宫速率或胎儿和母亲的交叉感染率[155]。阴道凝胶给药比宫颈给药更有效[156]。对两组受试者进行服药方法的考察，一组每 12h 服药一次，另一组每 6h 服药一次，单剂量给药后 12h 服药的受试者可以完成引产，但是两组的分娩间隔时间相同[157]。

由于有诱导分娩的作用，前列腺素也用于堕胎。PGE_1，作为一种阴道栓剂，与口服抗黄体酮、米非司酮（RU486）结合使用，发现是终止妊娠的一种安全、有效的非外科手术方法[158]。PGE_2 产品，最初是用来治疗由非类固醇类抗炎药引起的消化道溃疡，目前的研究显示它还是一种安全、廉价的终止妊娠的方法。单独使用米索前列醇可用于晚期胎儿死亡妇女的引产[159]。医学专业和新闻媒体的关注导致米索前列醇和甲氨蝶呤在早期流产中的应用。在这些应用中，阴道给予米索前列醇 3 天后可以通过肌内注射甲氨蝶呤（最初作为一种肿瘤和关节炎化疗的药物）引产。在怀孕 56 天或更短的时间内，这是一种有效的药物流产方法[160]。

4. 杀精子剂

阴道内杀精子剂的使用是为了节育，通过减少精子的运动最终将其杀灭。随着社会认可度的提高以及能防止性疾病传播，杀精子剂越来越受到人们欢迎。许多化合物具有杀精子活性。像前面提到的，壬苯醇醚-9 和辛苯昔醇是在美国最常用的杀精子剂。一些产品，如 alkyloxynol-741，在短尾猿身上研究了其杀精子的效果；又如短杆菌肽，在俄罗斯作为杀精子成分，但不能在美国使用。使用一种可溶解的聚乙烯醇薄膜制剂，比较 alkyloxynol-741 与壬苯醇醚-9 和洗必泰，研究结果发现，在一些不易获得壬苯醇醚-9 的国家[161]，alkyloxynol-741 是一种价廉的选择。将壬苯醇醚-9 和 EDTA 结合，研制了以卡波姆 934 聚合物为基质的凝胶制剂，其节育疗效有明显提高[44]。有文献报道，将壬苯醇醚-9 加入聚乙烯吡咯烷酮中所制成的片剂，壬苯醇醚-9 可以获得短期和长期释放，并能产生一个迅速而持久的促避孕特性[162]。已在加拿大上市的避孕海绵，含有胆酸钠、壬苯醇醚-9 和苯扎氯铵。胆酸钠本身显示出强烈的杀精子和抗病毒活性，提供了一个崭新的现代保护方法[163]。44-对乙酰氨基酚-4-胍基苯甲酸是精液中的一种丝氨酸蛋白酶，能够抑制精子头粒蛋白活性，比壬苯醇醚-9 活性高且刺激性小，同时又能抵抗 HIV 的感染[164]。

多方面的研究发现，壬苯醇醚-9 通过阴道膜的吸收非常慢，这说明药物的吸收取决于构成杀精子剂的低聚物相对分子质量[165,166]。渗透压实验发现，低聚物的油水分配系数起到关键性作用[36]。研究发现，在含有 3%壬苯醇醚-9 的氯化钙交联藻酸盐的凝胶制剂中，凝胶制剂的 pH 明显影响壬苯醇醚-9 杀精子的作用[167]。这种现象可能是因为 pH 影响壬苯醇醚-9 胶束的形成而造成的。

5. 类固醇

阴道给予类固醇治疗生殖道病症，显示出比口服和非肠道给药更适合。激素替代疗法可以治疗绝经期前、后妇女血管收缩、阴道干涩、生殖器萎缩造成的不适等症状，以及激素缺乏的其他相关症状。类固醇、黄体酮、雌激素已经使用多年并用于治疗各种生理条件的变化，如激素替代和避孕。作为口服雌激素的替代疗法，阴道雌激素乳膏剂治疗阴道萎缩疗效确切[168]。利用雌二醇乳膏剂可以有效治疗萎缩性阴道炎[53]，如果它与黄体酮同时使用，治疗子宫内膜增殖和增生也同样有效[169]。但是黄体酮的全身吸收对子宫内膜的增生可能会有风险。

像雌激素、黄体酮等药物已经开发成阴道用制剂，如乳膏剂、栓剂及阴道环。使用年幼的母猪进行试验，研究中观察到黄体酮在阴道有吸收并在局部进行重新分布[170]。与标准的肌内注射相比，阴道给药显示出能促进黄体酮的子宫吸收[171]。微粉化黄体酮的非液化阴道乳膏剂具有很好的发展前景[172,173]。由于黄体酮通过全身给药可以到达生殖器，医生给患者开具的处方是黄体酮和可可脂的混合栓剂。以乳糖为基质设计的黄体酮片可以释放生物有效的黄体酮达 48h[77]。这些片剂形成乳状的混悬液，可以在阴道滞留更长的时间，这对于治疗月经不调、功能性子宫出血、黄体期缺陷、经前期紧张、不孕和骨质疏松等症状具有很理想的疗效。最近的一项研究表明，当黄体酮进行阴道给药时会出现“子宫的首过效应”，这可以解释在研究中观察

到的相对于低的血清浓度，子宫却出现意外的高药物浓度的现象[174]。利用脂质体研制的黄体酮阴道给药已经成功地显示出较好的避孕效果[116]。阴道靶向给药系统中结合使用黄体酮，以及雌二醇的透皮治疗系统都能有效地再产生人工月经[95]。

采用大鼠模型评价阴道给药后硫酸去氢异雄甾酮钠的吸收和分泌特征。研究结果发现，药物的吸收明显受动情周期和怀孕进程的影响[175]。

6. 蛋白质和多肽

有关蛋白质和多肽的研究集中在胰岛素和促性腺释放激素（GnRH）及其吸收进入系统循环。胰岛素和甲状腺刺激激素在大鼠和家兔的阴道中显示出很好的吸收特性，但是受动情周期的影响很大[113]。亲水性分子，如胰岛素和GnRH，可以通过细胞间隙通道吸收，因此如果上皮细胞组织很薄时吸收能够有所增加[77,176]。在蛋白质和多肽的研究中普遍观察到经常需要吸收促进剂来帮助药物的吸收。在人体试验中，促进剂的使用很受限制，因此大部分的初步研究是在动物模型上开展，如大鼠和家兔[77]。阴道给予胰岛素，研究发现当使用促进剂，如 Na taurodihydrofusidate 聚氧乙烯-9-十二烷醇醚、溶血磷脂酰甘油、溶血磷脂酰胆碱和氯化棕榈酰肉毒碱等时，能明显增加在大鼠身上的降血糖效果[177]。另外研究的一些治疗成分有亮氨酸脑啡肽[66]、降血钙素[115,178]、重组人松弛肽[179,180]。松弛肽结构与胰岛素相近，有人将其研制成含3%的甲基纤维素凝胶的阴道制剂。采用这种制剂，能够限制非孕期兔和恒河猴的阴道渗透性。

目前，大部分研究工作集中在使用促黄体生成素释放激素（LHRH）类似物，特别是亮丙瑞林。最初的研究发现其阴道给药比直肠、鼻腔和口服给药效果更好[181]。利用有机酸（柠檬酸、琥珀酸、酒石酸和甘氨胆酸）促进药物的吸收可以使生物利用度提高20%。阴道用凝胶剂被发现是具有实际应用价值的一种剂型。另外，对作为吸收促进剂的有机酸进行研究发现，其通过酸化和螯合来提高吸收[182]。柠檬酸也显示出能减小阴道血管上皮组织屏障的作用。通过亮丙瑞林的长期阴道给药治疗垂体后叶素的下调，这种治疗方法在大鼠身上显示出能够使激素依赖的乳腺肿瘤衰退[183~185]。最近关于LHRH在家兔组织匀浆内一级降解的系统前代谢的一项研究显示，阴道给药是人们首选的给药途径[186]。阴道组织匀浆的药物半衰期比直肠组织匀浆长9～12倍，比鼻腔组织匀浆长3～4倍。

7. 疫苗、抗原和基因药物的给药

对免疫应答有显著影响的因素是疫苗和抗体的给药途径和方法[187]。自从在20世纪80年代早期人们对获得性免疫缺陷征（AIDS）有所认识后，研究人员就已经致力于发现和寻找能够治疗和最终治愈AIDS的一些药理成分，以及防止AIDS病毒扩散的方法。据报道，从阴道和直肠黏膜感染是HIV和其他性传播病毒扩散的两个主要途径[188,189]。黏膜的免疫性被认为是人体防止病原体进行全身感染的第一道防线。疫苗开发要考虑的最重要的因素是可以使用最少量的药物和最可行的方法在黏膜表面产生免疫性而起到保护作用[81,190]。因此，这类研究意在阐明不同的免疫途径对黏膜应答的种类和程度方面所造成的影响[191]。有报道说，妇女生殖道黏膜的免疫受免疫球蛋白（Igs）、细胞因子和生殖激素的影响。由DNA免疫引发的这种反应依赖于抗原的同一性和其给药途径。表皮给药途径，如阴道内黏膜给药在剂型的需求方面更有效[192,193]。有人研究了口服避孕药丸（OCPs）的妇女，外源性激素对其生殖道免疫功能产生的影响。这些妇女子宫颈黏液IgA的平均值比那些正常月经周期的妇女要高得多[194]。口服避孕药的妇女的子宫颈黏液IgA值的增高可以使性传播疾病的发病率降低。对体内动物模型的研究发现，使用基因枪进行黏膜组织的质粒转染，人体增长激素的阴道内免疫比其他免疫途径产生了更高浓度的子宫颈抗体[88]。

近来研制的免疫性DNA型疫苗可以弥补抗原型疫苗免疫方面的不足。DNA型疫苗的主要给药部位有口腔、鼻腔、直肠和阴道[195,196]。人们对小鼠进行不同途径的给药，比较了各自乙肝表面抗原编码的质粒诱导免疫反应的效果[197]。据报道，通过阴道给药仍然能使细胞毒T淋巴细胞产生活性，尽管其不能诱生抗体。人们将人猿病毒1型（HSV）疫苗试制成一种水溶液或鼻内凝胶、阴道凝胶，并对豚鼠进行皮下注射等[198]。采用的凝胶系统是一种控释的卡波姆凝胶。只进行皮下注射的动物在给药3～5周后产生了IgG和IgA。鼻腔给药和阴道给药途径显示出疫苗能够吸收和排放抗体，因此能够稍微减轻疾病的严重性，但是与皮下给药相比无优势。在另一项研究中，利用从一种HIV包膜的糖蛋白中获取的合成多肽来免疫大鼠，研究结果显示，大鼠体内产生很高的IgG和IgA反应，同时伴随有溶血磷脂丙三醇的增高[199,200]。皮下给药和阴道给药产生的血清内抗体能够识别糖蛋白（HIV 1 gp120），但是没有发现有抗病毒的活性。使用溶血磷脂酰胆碱和可降解淀粉微球的抗原系统对绵羊进行阴道途径给药，显示出一定的应用潜力[199,200]。如果阴道有产生免疫应答的能力，那么生殖器内分泌的抗体可以降低HIV的传播。采用荧光素异硫氰酸盐牛血清白蛋白进行阴道给药的跟踪，荧光素异硫氰酸盐辣根过氧化物酶和荧光素异硫氰酸盐马铁蛋白显示出阴道和子宫颈是蛋白附着的主要部位[201]。

女性生殖道中的乳酸杆菌已经被研制为一种能够向阴道黏膜表面连续给予外源性抗原的载体，用来刺激阴道黏膜产生局部的免疫应答[202]。发酵乳酸杆菌被选择用来作为基因治疗，对豚鼠进行阴道给药并维持了5天。时间虽然短，但是这种新型的疫苗给药方式显示出具有刺激黏膜产生免疫的能力。有人将马铁蛋白和氢氧化铝、胞壁酰二肽、单磷酰脂质A、二甲基双十八烷基铵离子、霍乱毒素结合[203]在一起，发现氢氧化铝结合物刺激免疫应答最有效。但是抗原的剂量比正常组的大。因此，在更实际的剂量下，药物结合物可能会无效。另外，采用小鼠铁蛋白的研究显

示，在女性生殖道非黏膜部位产生的骨盆免疫在刺激 IgA 应答方面非常有效，这种效果比阴道给药更有效，因为后者可能有与阴道无关的回肠淋巴节点参与[204]。

作为妇产医学的一种潜在的治疗方法，白色假丝酵母疫苗被研究和开发，在阴道给药后产生抗体应答，其作用在反复的尿路感染中被评价[205,206]。血清中的抗体和非抗体 non-*E. coli* 被表达[207]。疫苗有很好的耐受性，而且得到了很好的发展。另外，已经得到认可的疫苗有通过阴道、子宫内、咽部和肌肉途径给药的非活性的脊髓灰质疫苗。对脊髓灰质病毒有影响的分泌抗体在子宫内发现，它们是 IgA 和 IgG。生殖道本身是具有免疫活性的，在防止传染，像淋球菌和生殖器疱疹等方面扮演重要的角色[208]。在动物方面的使用，牛疱疹Ⅱ型病毒的研究已经引起人们的注意。该病毒可以引起乳头和乳房溃疡。皮下或阴道给予疫苗已经显示出降低感染的很好效果[209]。

8. 抗炎以及其他成分

溴麦角环肽已经用于治疗催乳素过多的妇女[210]。药物以阴道片的形式从阴道给予，显示出很好的吸收效果，同时避免了副作用。苄达明，是一个可以局麻和止痛的非载体抗炎药，可以将其开发成漱口药、皮肤乳膏剂、阴道冲洗液，用于局部治疗[211]。另外一个用于阴道给药的化学单体是止血环酸，它是一种抗纤维蛋白溶解药，常口服用来治疗与子宫环相关的月经过多。止血环酸阴道给药被发现有很好的耐受性，并且可以避免对胃肠道的副作用[212]。

参 考 文 献

1. Woolfson, A.; Malcolm, R. K.; Gallagher, R. Drug Delivery by the Intravaginal Route. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 2000, 17 (15), 509—555.
2. Platzer, W.; Poisel, W.; Hafez, E. S. E. Functional Anatomy of the Human Vagina. The Human Vagina; Hafez, E. S. E., Evans, T. N., Eds.; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 39—53.
3. Kistner, R. Physiology of the Vagina. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 109—120.
4. Burgos, M.; Roig de Varnas-Linares, C. Ultrastructure of the Vaginal Mucosa. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York; 1978, 63—93.
5. Averette, H.; Weinstein, G.; Frost, P. Autoradiographic Analysis of Cell Proliferation Kinetics in Human Genital Tissues. I. Normal Cervix and Vagina. Amer. J. Obstet. Gynec. 1970, 108, 8—17.
6. Wagner, G.; Levin, R. Vaginal Fluid. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 121—137.
7. Itoh, Y. Analysis of Human Vaginal Secretions Using Rabbit Anti-Human Vaginal Secretions: Detection of Non-serum Proteins. Nippon Hoigaku Zasshi 1990, 44, 267—271.
8. Itoh, Y.; Furuhata, A.; Sato, Y. Immunohistochemical Studies on the Localization of Non-Serum Proteins Detectable in Human Vaginal Secretions. Nippon Hoigaku Zasshi 1991, 45, 26—29.
9. Schmidt, E.; Beller, F. Biochemistry of the Vagina. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 139—149.
10. Moghissi, K. Composition and Function of Cervical Secretions. Handbook of Physiology; American Physiological Society: Washington D. C., 1978; II, 25—48.
11. Richardson, J.; Illum, L. Routes of Delivery: Case Studies, the Vaginal Route of Peptide and Protein Drug Delivery. Adv. Drug Delivery Rev. 1992, 8, 341—366.
12. Sparks, R.; Purrier, B.; Watt, P.; Elstein, M. The Bacteriology of the Cervix and Uterus. Br. J. Obstet. Gynecol. 1977, 84, 701—704.
13. Masters, W.; Johnson, V. Human Sexual Response; Little Brown, and Co.: Boston, 1966.
14. Steger, R.; Hafez, E. Age-Associated Changes in the Vagina. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 95—106.
15. Brown, W. Microbial Ecology of the Normal Vagina. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978; 407—422.
16. Macht, D. On the Absorption of Drugs and Poisons through the Vagina. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1918, 10, 509—521.
17. Robinson, G. Absorption from the Vagina. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1927, 32, 81—88.
18. Macht, D. Concerning the Absorption of Quinin and Oxyquinolin Sulphate through the Vagina. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1928, 34, 137—145.
19. Millman, N.; Hartman, C.; Stavorski, J.; Botti, J. Unidirectional Permeability of the Vaginal Wall of the Rabbit. Fed. Proc. 1950, 9, 89.
20. Hartman, C. The Permeability of the Vagina Mucosa. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1959, 83, 313—327.
21. El-Sheikha, A.; Hafez, E. Absorption of Drugs and Hormones in the Vagina. The Human Vagina; North Holland Publishing Co.; New York, 1978; 179—191.
22. Benzinger, D.; Edelson, J. Absorption from the Vagina. J. Drug Metab. Rev. 1983, 14, 137—168.
23. Rosenzweig, M.; Walzer, M. Absorption of Protein from the Vagina and Uterine Cervix. Am. J. Obstet. Gynecol. 1943, 45, 286—290.
24. Cunningham, F.; Kraus, D.; Brubaker, L.; Fischer, J. The Bacteriology of the Cervix and Uterus. J. Clin. Pharmacol. 1994, 34, 1060—1065.
25. Chien, Y. Mucosal Drug Delivery. Novel Drug Delivery

Y

Systems; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 197—228.

26. Hwang, S.; Owada, E.; Yotsuyanagi, T.; Suhardja, L.; Ho, H.; Flynn, G.; Higuchi, W. Systems Approach to Vaginal Delivery of Drugs II: In Situ Vaginal Absorption of Unbranched Aliphatic Alcohols. J. Pharm. Sci. 1976, 65, 1574—1578.
27. Hwang, S.; Owada, E.; Suhardja, L.; Ho, H.; Flynn, G.; Higuchi, W. Systems Approach to Vaginal Delivery of Drugs V: In Situ Vaginal Absorption of l-Alkanoic Acids. J. Pharm. Sci. 1977, 66, 781—784.
28. Bengtsson, L.; Acta Endocrinol 1953, 13, 11.
29. Yotsuyanagi, T.; Molokhia, A.; Hwang, S.; Ho, N.; Flynn, G.; Higuchi, W. Systems Approach to Vaginal Delivery of Drugs I: Development of In Situ Vaginal Drug Absorption Procedure. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 71.
30. Hwang, S.; Owada, E.; Suhardja, L.; Ho, H.; Flynn, G.; Higuchi, W. Systems Approach to Vaginal Delivery of Drugs IV: Methodology for Determination of Membrane Surface pH. J. Pharm. Sci. 1977, 66, 778—781.
31. Flynn, G.; Ho, N.; Hwang, S.; Owada, E.; Molokhia, A.; Behl, C.; Higuchi, W.; Yotsuyanagi, T.; Shah, Y.; Park, J. Interfacing Matrix Release and Membrane Absorption Analysis of Steroid Absorption from a Vaginal Device in the Rabbit Doe. Controlled Release of Polymeric Formulations; American Chemical Society: Washington DC, 1976; 87—122.
32. Ho, H.; Suhardja, L.; Hwang, S.; Owada, E.; Molokhia, A.; Flynn, G.; Higuchi, W.; Park, J. Systems Approach to Vaginal Delivery of Drugs III: Simulation Studies Interfacing Steroid Release from Silicone Matrix and Vaginal Absorption in Rabbits. J. Pharm. Sci. 1976, 65, 1578.
33. Corbo, D.; Liu, J.; Chien, Y. Characterization of the Barrier Properties of Mucosal Membranes. J. Pharm. Sci. 1990, 79, 202—206.
34. Rojanasaku, Y.; Wang, L.; Bhat, M.; Glover, D.; Malanga, C.; Ma, J.; Pharm. Research 1992, 9, 1029—1034.
35. Sanders, J.; Matthews, H. Vaginal Absorbance of Polyvinyl Alcohol in Fisher-344 Rats. Human Exp. Toxicol. 1990, 9, 71—77.
36. Yu, K.; Chien, Y. Spermicidal Activity-Structure Relationship of Nonoxynol Oligomers: Physicochemical Basis. Int. J. Pharm. 1995, 125, 81—90.
37. Chien, Y.; Mares, S.; Berg, J.; Huber, S.; Lambert, H.; King, K. Controlled Drug Release from Polymeric Delivery Devices. III: In Vitro-In Vivo Correlation of Intravaginal Release of Ethynodiol Diacetate from Silicone Devices in Rabbits. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 1776.
38. Moghissi, K. Composition and Function of Cervical Secretion. Handbook of Physiology; American Physiological Society: Washington D. C., 1973; 25—48.
39. Eriksen, G.; Carlstedt, I.; Uldbjerg, N.; Ernst, E. Cervical Mucins Affect the Motility of Human Spermatozoa In Vitro. Fertil. Steril. 1998, 70, 350—354.
40. Morales, P.; Roco, M.; Vigil, P. Human Cervical Mucus: Relationship between Biochemical Characteristics and Ability to Allow Migration of Spermatozoa. Human Reprod. 1993, 8, 78—83.
41. Wolf, D.; Sokoloski, J.; Khan, M.; Litt, M. Human Cervical Mucus. III. Isolation and Characterization of Rheological Active Mucin. Fertil. Steril. 1977, 28, 53—58.
42. Pigman, W. The Glycoconjugate; Academic Press: NY, 1977; 1, 1.
43. Murata, L.; Dodson, M. The Herpes Simplex Virus Type 1 Origin-binding Protein. Sequence-specific Activation of Adenosine Triphosphatase Activity by a Double-stranded DNA Containing Box I. J. Biol. Chem. 1999, 274 (52), 37079—37086.
44. Lee, C.; Bagdon, R.; Bhatt, P.; Chien, Y. Development of Silicone-based Barrier Devices for Controlled Release of Spermicidal Agent. J. Cont. Rel. 1997, 43, 283—290.
45. Silberberg, A.; Meyer, F. Mucus in Health and Disease II; Chantter, E.; Elder, J.; Eionstein, M., Eds.; 1982; 53—74.
46. Sheehan, J.; Carlstedt, I. Hydrodynamic Properties of Human Cervical Mucus Glycoproteins in 6M-Guanidinum Chloride. Biochem. J. 1984, 217, 93—101.
47. Blasco, L. Clinical Approach to the Evaluation of Sperm-cervical Mucus Interactions. Fertil. Steril. 1977, 28, 1133.
48. Lee, C.; Anderson, M.; Chien, Y. Characterization of In Vitro Spermicidal Effect of Chelating Agent against Human Sperm. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 649—654.
49. Vigil, P.; Perez, A.; Neira, J.; Morales, P. Post-partum Cervical Mucus: Biological and Rheological Properties. Human Reprod. 1991, 6, 475—479.
50. Lundholm, P.; Asakura, Y.; Hinkula, J.; Lucht, E.; Wahren, B. Induction of Mucosal IgA by a Novel Jet Delivery Technique for HIV-1 DNA. Vaccine 1999, 17, 2036—2042.
51. Friend, D. Plasma Membrane Diversity in a Highly Polarized Cell. J. Cell Biol. 1982, 93, 243—249.
52. Yanagimachi, R. Sperm-Egg Fusion. Current Topics in

Membranes and Transport; Academic Press: NY, 1988; 32, 3—43.

53. Barentsen, R.; Peter, H.; Van de Weijer, H.; Schram, J. Continuous Low Dose Esradiol Released from a Vaginal Ring vs Estriol Vaginal Cream for Urogenital Atrophy. Eur. J. Ob. Gyn. Rep. Biol. 1997, 71, 73—80.
54. Jovov, B.; Lewis, S.; Crowe, W.; Berg, J.; Wills, N. Role of Intracellular CA^{++} in Modulation of Tight Junction Resistance in A6 cells. Am. J. Physiol. 1994, 266, F775—784.
55. Gorodeski, G.; Jin, W.; Hopper, U. Extracelllar Ca^{++} Directly Regulates Tight Junctional Permeability in the Human Cervical Cell Line CaSki. Am. J. Physiol. 1997, 272, C511—524.
56. Platz-Christensen, J.; Pernevi, P.; Bokstrom, H.; Wiqvist, N. Prostaglandin E and F2a Concentration in the Cervical Mucus and Mechanism of Cervical Ripening. Prostaglandins 1997, 53, 253—261.
57. Gonzalez-Estrella, J.; Coney, P.; Ostash, K.; Karabinus, D. Dithiothreitol Effects on the Viscosity and Quality of Human Semen. Fertil. Steril. 1994, 62, 1238—1243.
58. Casper, F.; Petri, E. Local Treatment of Urogenital Atrophy with an Estradiol-Releasing Vaginl Ring: A Comparative and a Placebo-controlled Multicenter Study. Int. Urogynecol. J. 1999, 10, 171—176.
59. Odeblad, E. Biophysical Composition of Cervical Mucus and Sperm Migration during Treatment with Conluten and Conlunett. Acta Obstertricia et Gynecologica Scandinavica 1968, 47 (suppl. 8), 7—19.
60. Moghissi, K. Cervical Factor in Fertility. Reproductive Medicine and Surgery; Mosby Book Co.; Chicago, 1995; 376—397.
61. Katz, D.; Slade, D.; Nakajima, S. Analysis of Pre-ovulatory Changes in Cervical Mucus Hydration and Sperm Penetrability. Adv. Contraction 1997, 13 (2—3), 143—151.
62. Nasir-Ud-Din; Jeanloz, R.; Vercelotti, J.; McArthur, J. Studies on Bonnet Monkey Cervical Mucus: The Effect of Proteases on Mucus Glycoproteins of Macaca radiata. Biochimica. Biophysica. Acta 1981, 678, 483—496.
63. Madsen, F.; Eberth, K.; Smart, J. A Rheological Examination of the Mucoadhesive/Mucus Interaction: The Effect of Mucoadhesive Type and Concentration. J. Con. Rel. 1998, 50, 167—178.
64. Moriyama, A.; Shimoya, K.; Ogata, I.; Kimura, T.; Nakamura, T.; Wada, H.; Ohashi, K.; Azuma, C.; Saji, F.; Murata, Y. Secretary Leukocyte Protease Inhibitor Concentrations in Cervical Mucus of Women with Normal Menstrual Cycle. Mol. Human Reprod. 1999, 5, 665—661.
65. Kocevar-Nared, J.; Kristl, J.; Smid-Korbar, J. Comparative Rheological Investigation of Crude Gastric Mucin and Natural Gastric Mucus. Biomaterials 1997, 18 (9), 677—681.
66. Sayani, A.; Chun, I.; Chien, Y. Transmucosal Delivery of Leucine Enkephalin: Stabilizing in Rabbit Enzyme Extracts and Enhancement of Permeation through Mucosa. J. Pharm. Sci. 1993, 82, 1179—1185.
67. Hartman, C.; Endocrinology 1939, 25, 670.
68. Behl, C., Ph. D. Dissertation; University of Michigan, Ann Arbor.
69. Rock, J.; Barker, R.; Bacon, W.; Science 1947, 105, 13.
70. Shudmak, M.; Hesseltine, H.; Am. J. Obstet. Gynecol. 1951, 62, 669.
71. Baker, D.; Anat. Rec. 1928, 39, 339.
72. Laug, E.; Kunze, F.; J. Pharm. Exp. Ther. 1949, 95, 460.
73. Despande, A.; Rhodes, C. Intravaginal Drug Delivery. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18, 1225—1279.
74. Chien, Y. Vaginal Drug Delivery and Delivery Systems. Novel Drug Delivery Systems; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 529—584.
75. Kabongo, M. Problems with Over-the counter Vaginal Preparations. Amer. Family Phys 1993, 48, 579.
76. Nachtigall, L. Comparative Study: Replens versus Local Estrogen in Menopausal Women. Fertil. Steril. 1994, 61, 178—180.
77. Holst, E.; Brandberg, A. Treatment of Bacterial Vaginosis in Pregnancy with a Lactate Gel. Scand. J. Inf. Dis. 1990, 22, 625—626.
78. Brannan-Peppas, L. Novel Vaginal Drug Release Applications. Adv. Drug Delivery Rev. 1993, 11, 169—177.
79. Mishell, D., Jr.; Talas, M., Jr.; Parlow, A., Jr.; Moyr, D., Jr. Contraception by Means of a Silastic Vaginal Ring Impregnated with Medroxyprogesterone Acetate. Am. J. Obstet. Gynecol. 1970, 107, 100.
80. Mishell, D., Jr.; Lumkin, M., Jr.; Stone, S., Jr. Inhibition of Ovulation with Cyclic Use of Progestogen-Impregnated Intravaginal Devices. Am. J. Obstet. Gynecol. 1972, 113, 927—932.
81. Cornette, J.; Kirton, K.; Duncan, G. Measurement of Medroxyprogesterone Acetate (Provera) by Radio-Immunoassay. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1971, 33, 459.
82. Hiroi, M.; Stanczyk, F.; Goebelsmann, U.; Brenner, P.; Lumkin, M.; Mishell, D., Jr. Radioimmunoassay of Serum Medroxyprogesterone Acetate (Provera) in

Y

Women Following Oral and Intravaginal Administration. Steroids 1975, 26, 373.

83. Thiery, M.; Vandekerckhove, D.; Dhondt, M.; Vermeulen, A.; Decoster, J. The Medroxyprogesterone Acetate Intravaginal Silastic Ring as a Contraceptive Device. Contraception 1976, 13, 605—617.
84. Vermeulen, A.; Dhondt, M.; Thiery, M.; Vandekerckhove, D. Plasma Sex Steroid and Gonadotropin Levels in Control and Silastic Vaginal Medroxyprogesterone Acetate-Impregnated Ring Cycles. Fertil. Steril. 1976, 27, 773—779.
85. Landgren, B.; Aedo, A.; Johannisson, E.; Cekan, S. Pharmacokinetic Studies with a Vaginal Delivery System Releasing Levonorgestrel at a Near Zero Order Rate for One Year. Contraception 1994, 49, 139—150.
86. Schmidt, G.; Andersson, S.; Nordle, O.; Johansson, C.; Gunnarsson, P. Release of 17-Beta-Oestradiol from a Vaginal Ring in Postmenopausal Women: Pharmacokinetic Evaluation. Gynecol. Obstet. Inv. 1994, 38, 253—260.
87. Nash, H.; Brache, V.; Alvarez-Sanchez, F.; Jackanicz, T.; Harmon, T. Estradiol Delivery by Vaginal Rings: Potential for Hormone Replacement Therapy. Maturitas 1997, 26, 27—33.
88. Victor, A.; Nash, H.; Jackanicz, T.; Johansson, E.; Contraception 1975, 12, 261.
89. Stanczyk, F.; Hiroi, M.; Goebelsmann, U.; Brenner, P.; Lumkin, M.; Mishell, D., Jr.; Contraception 1975, 23, 279.
90. World Health Organization. Contraception 1990, 27, 105—124.
91. Burton, F.; Skiens, W.; Gordon, N.; Veal, J.; Kalkwarf, D.; Duncan, G. Fabrication and Testing of Vaginal Contraceptive Devices Designed for Release of Prespecified Dose Levels of Steroids. Contraception 1978, 17, 221—230.
92. Laundgren, B.; Johannisson, E.; Masironi, B.; Diczfalusy, E. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Investigations with Vaginal Devices Releasing Levonorgestrel at a Constant, Near Zero Order Rate. Contraception 1982, 26, 567—585.
93. Laundgren, B.; Johannisson, E.; Xing, S.; Aedo, A.; Diczfalusy, E. A Clinical Pharmacological Study of a New Type of Vaginal Delivey System for Levonorgestrel. Contraception 1985, 26, 581—601.
94. Laundgren, B.; Aedo, A.; Cekan, S.; Diczfalusy, E. Pharmacokinetic Studies with a Vaginal Delivery System Releasing Levonorgestrel at a Near Zero Order Rate for One Year. Contraception 1986, 26, 473—497.
95. Bals-Pratsch, M.; Al-Hasani, S.; Schopper, B.; Diedrich, C.; Hoepfner, A.; Weiss, J.; Kupker, W.; Felberbaum, R.; Ortmann, O.; Bauer, O.; Diedrich, K.; Hum Reprod. 1999, 14 (Suppl 1), 222—230.
96. Mishell, D., Jr.; Moore, D., Jr.; Roy, S., Jr.; Brenner, P., Jr.; Page, M., Jr. Clinical Performance and Endocrine Profiles with Contraceptive Vaginal Rings Containing a Combination of Estradiol and D-Norgestrel. Am. J. Obstet. Gynecol. 1978, 130, 55—62.
97. Nash, H. Controlled Release Systems for Contraception. Medical Applications of Controlled Release; CRC Press: Florida, 1984; 35—64.
98. Sam, A. Minutes of 5th International Pharmaceutical Technology Symposium on New Approaches to Controlled Drug Delivery; Hincal, A. A. Ed.; Editions de Sante: Paris, 1991; 271—284.
99. Timmer, C.; Apter, D.; Voortman, G. Pharmacokinetics of 3-Keto-desogestrel and Ethinylestradiol Released from Different Types of Contraceptive Vaginal Rings. Contraception 1990, 42 (6), 629—642.
100. Chien, Y. Microsealed Drug Delivey Systems: Fabrications and Performance. Methods Enzymol. 1985, 112, 461—470.
101. Hermans, R.; Longo, L.; McGivern, R. Decreased Postnatal Testosterone and Corticosterone Concentrations in Rats Following Acute Intermittent Prenatal Hypoxia without Alterations in Adult Male Sex Behavior. Neurotoxicol Teratol 1994, 16 (2), 201—206.
102. Witter, F.; Rocco, L.; Johnson, T. A Randomized Trial of Prostaglandin E2 in a Controlled-release Vaginal Pessary for Cervical Ripening at Term. Am. J. Obstet. Gyn. 1992, 166, 830—834.
103. Henriksson, L.; Stjernquist, M.; Boquist, L.; Alander, U.; Selinus, I. A Comparative Multicenter Study of the Effects of Continuous Low-Dose Estradiol Released from a New Vaginal Ring versus Estriol Vaginal Pessaries in Postmenopausal Women with Symptoms and Signs of Urogenital Atrophy. Am. J. Obstet. Gyn. 1994, 171, 624—632.
104. Igarashi, M.; Iizuka, M.; Abe, Y.; Ibuki, Y. Novel Vaginal Danazol Ring Therapy for Pelvic Endometriosis, in Particular Deeply Infiltrating Endometriosis. Hum. Reprod. 1998, 13 (7), 1952—1956.
105. Currie, W.; Joseph, I.; Rawlings, N. Morphine, Naloxone and the Gonadotrophin Surge in Ewes. Reprod. Fertil. 1991, 92, 407—414.
106. Kabadi, M.; Chien, Y. Intravaginal Controlled Administration of Flurogestone Acetate II. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1464—1468.

107. Kabadi, M.; Chien, Y. Intravaginal Controlled Administration of Flurogestone Acetate III. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11, 1271—1312.
108. Kabadi, M.; Chien, Y. Intravaginal Controlled Administration of Flurogestone Acetate IV. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11, 1313—1316.
109. Knuth, K.; Amiji, M.; Robinson, J. Hydrogel Delivery Systems for Vaginal and Oral Applications, Formulation and Biological Considerations. Adv. Drug Delivery Rev. 1993, 11, 137—167.
110. Machida, Y.; Masuda, H.; Fujiyama, N.; Ito, S.; Iwata, M.; Nagai, T. Preparation and Phase II Clinical Examination of Topical Dosage Form for Treatment of Carcinoma Coli Containing Bleomycin with Hydroxypropyl Cellulose. Chem. Pharm. Bull. 1979, 27, 93—100.
111. Gürsoy, A.; Bayhan, A.; Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18, 203—221.
112. Gürsoy, A.; Sohtorik, I.; Uyanik, N.; Peppas, N.; STP Pharma. 1989, 5, 886—892.
113. Morimoto, K.; Takeeda, T.; Nakamoto, Y.; Morisaka, K.; Int. J. Pharm. 1982, 12, 107—111.
114. Bonucci, E.; Ballanti, P.; Ramires, R.; Richardson, J.; Benedetti, L. Prevention of Ovariectomy Osteopenia in Rats after Vaginal Administration of Hyaff 11 Microspheres Containing Salmon Calcitonin. Calcif. Tissue Int. 1995, 56, 274—279.
115. Leung, S.; Robinson, J.; Polym. News 1990, 15, 333—342.
116. Jain, S.; Singh, R.; Sahu, B.; Drug Dev. Ind. Pharm. 1997, 23, 827—830.
117. Foldvari, M.; Moreland, A.; Liposome Res. 1997, 7, 115—126.
118. Pavelic, Z.; Skalko-Basnet, N.; Jalsenjak, I. Liposomes Containing Drugs for Treatment of Vaginal Infections. Euro. J. Pharmaceutical Sci. 1999, 8, 345—351.
119. Krebs, F.; Miller, S.; Catalone, B.; Welsh, P.; Malamud, D.; Howett, M.; Wigdahl, B. Sodium Dodecyl Sulfate and C31G as Microbicidal Alternatives to N-9: Comparative Sensitivity of Primary Human Vaginal Keratocytes. Antimicrobial agents Chemotherapy 2000, 44, 1954—1960.
120. Salas-Herrera, I.; Lawson, M.; Johnston, A.; Turner, P.; Gott, D.; Dennis, M. British Plasma Metronidazole Concentrations after Single and Repeated Vaginal Pessary Administration. J. Clin. Pharmacol. 1991, 32, 621—623.
121. Hoffmann, C.; Focke, N.; Franke, G.; Zschiesche, M.; Siegmund, W. Int. Comparative Bioavailability of Metronidazole Formulations (Vagimid) after Oral and Vaginal Administration. J. Clin. Pharm. Ther. 1995, 33, 232—239.
122. Fischbach, F.; Petersen, E.; Weissenbacher, E.; Martius, J.; Hosmann, J.; Mayer, H. Efficacy of Clindamycin Vaginal Cream versus Oral Metronidazole in the Treatment of Bacterial Vaginosis. Obstet. Gynecol. 1993, 82, 405—410.
123. Borin, M. Systemic Absorption of Clindamycin Following Intravaginal Application of Clindamycin Phosphate 1% Cream. J. Clin. Pharacol. 1990, 30, 33—38.
124. Lawrence, A.; Houang, E.; Hiscock, E.; Wells, M.; Colli, E.; Scatigna, M. Single Dose Therapy of Vaginal Candidiasis: A Comparative Trial of Fenticonazole Vaginal Ovules versus Clotrimazole Vaginal Tablets. Curr. Med. Res. Opinion 1990, 12, 114—120.
125. Boag, F.; Houang, E.; Westrom, R.; McCormack, S.; Lawrence, A. Comparison of Vaginal Flora after Treatment with a Clotrimazole 500 mg Vaginal Pessary or a Fluconazole 150 mg Capsule for Vaginal Candidosis. Genitourinary Med. 1991, 67, 232—234.
126. Richardson, J.; Minhas, P.; Thomas, N. Vaginal Administration of Gentamicin to Rats—Pharmaceutical and Morphological Studies Using Absorption Enhancers. Illum, L. Int. J. Pharm. 1989, 56, 29—36.
127. Merkus, J.; J. Amer. Acad. Dermatol. 1990, 23, 568—572.
128. Novelli, A.; Periti, E.; Massi, G.; Masi, R.; Mazzei, T.; Periti, P. Systemic Absorption of 3H-Fenticonazole after Vaginal Administration of 1 gram in Patients. J. Chemotherapy 1993, 3, 23—27.
129. O'Connell, M.; Hoskin, P.; Mayles, W.; McElwain, T.; Barrett, A. Intravaginal Iridium-192 in the Management of Embryonal Rhabdomyosarcoma. Clin. Oncology 1991, 3, 236—239.
130. Coppi, G.; Silingardi, S.; Girardello, R.; De Aloysio, D.; Manzardo, S. Pharmacokinetics of Ciclopirox Olamine after Vaginal Application to Rabbits and Patients. J. Chemotherapy 1993, 5, 302—306.
131. Fujii, T.; Naito, H.; Kioka, H.; Tanioka, Y.; Murakami, J.; Sanada, M.; Tanimoto, H.; Nakagawa, H.; Tanaka, T.; Furui, J. Effect of Intravaginal Administration of Cisplating (CDDP) Suppositories to Uterine Cervical Cancer-Blood and Tissue Concentrations and the Therapeutic Effects. Jpn. J. Cancer Chem. 1995, 22, 99—103.
132. Schraub, S.; Sun, X.; Maingon, P.; Horiot, J.; Daly, N.; Keiling, R.; Pigneux, J.; Pourquier, H.; Rozan, R.; Vrousos, C.; Cancer 1992, 69, 2505—2509.
133. Lauersen, N.; Wlson, K.; Prostaglandins 1976, 12

(Suppl), 63.

134. Lauersen, N.; Wlson, K.; Prostaglandins 1976, 13, 697.
135. Roseman, J.; Spilman, C. Controlled Release Systems; AICHE Symp.: New York, 1981; 77.
136. Cohen, L.; Lordi, N.; J. Pharm. Sci. 1980, 69, 955.
137. Spilman, C.; Roseman, T.; Baker, R.; Tuttle, M.; Lonsdale, H. Controlled Release Delivery Systems; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1983; 133—140.
138. Duenhoelter, J.; Ramos, R.; Milewich, L.; MacKonald, P. Interruption of Early Pregnancy with a Silastic Device Containing (15S) -15-Methyl Prostaglandin F2alpha Methyl Ester: Efficacy and Mode of Action. Contraception 1978, 17, 51.
139. Karim, S.; Ratnam, S. Termination of Pregnancy with Vaginal Administration of 16, 16 Dimethyl Prostaglandin E2 p-Benzaldehyde Semicarbazone Ester. Br. J. Obstet. Gynecol. 1977, 84, 135—137.
140. Karim, S.; Ratnam, S.; Prasad, R.; Wong, Y. Vaginal Administration of a Single Dose of 16, 16 Dimethyl Prostaglandin E2 p-Benzaldehyde Semicarbazone Ester for Pre-operative Cervical Dilatation in First Trimester Nulliparae. Br. J. Obstet. Gynecol. 1977, 84, 269—271.
141. Spilman, C.; Roseman, T. Luteolytic and Abortifacient Effects in Rhesus Monkeys of Silicone Vaginal Rings Containing 15 (S) 15-Methyl-prostaglandin F2 Alpha Methyl Ester. Contraception 1975, 11, 409—18.
142. Spilman, C.; Beuving, D.; Forbes, A.; Roseman, T.; Larion, L. Evaluation of Vaginal Delivery Systems Containing 15 [S] -15-Methyl PGF2 Alpha Methyl Ester. Prostaglandins. Prostaglandins 1976, 12 (Suppl.), 1—16.
143. Graham, N.; McNeill, M. Hydrogels for Controlled Drug Delivery. Biomaterials 1984, 5 (1), 27—36.
144. Embrey, M.; Graham, N.; McNeill, M. Induction of Labour with a Sustained-Release Prostaglandin E2 Vaginal Perssary. Br. Med. J. 1980, 281, 901—902.
145. Taylor, A.; Boland, J.; MacKenzie, I. The Concurrent In Vitro and In Vivo Release of PGE2 from a Controlledrelease Hydrogel Polymer Pessary for Cervical Ripening. Prostaglandins 1990, 40, 89—98.
146. Taylor, A.; Boland, J.; Bernal, A.; MacKenzie, I. Prostaglandin Metabolite Levels during Cervical Ripening with a Controlled-Release Hydrogel Polymer Prostaglandin E2 Pessary. Prostaglandins 1991, 41, 585—594.
147. Lyndrup, J.; Nickelsen, C.; Guldbaek, E.; Weber, T. Induction of Labor by Prostaglandin E2: Intracervical Gel or Vaginal Pessaries? Eur. J. Obstet. Gyn. Rep. Biol. 1992, 42, 101—109.
148. Bennett, M.; Horrowitz, S.; Wass, D. The Use of 16, 16- Dimethyl-PGE1-deltamethyl Ester (Cervagem) Vaginal Pessaries for Cervical Dilatation Prior to Evacuation for Second Trimester Termination. Austr. New Zealand J. Obstet. Gyn. 1991, 31, 44—47.
149. Kurup, A.; Chua, S.; Arulkumaran, S.; Tham, K.; Tay, D.; Ratnam, S. Induction of Labour in Nulliparas with Poor Cervical Score: Oxytocin or Prostaglandin Vaginal Pessaries? Austr. New Zealand J. Obstet. Gyn. 1991, 31, 223—226.
150. Rayburn, W.; Wapner, R.; Barss, V.; Spitzberg, E.; Molina, R.; Mandsager, N.; Yonekura, M. An Intravaginal Controlled-Release Prostaglandin E2 Pessary for Cervical Ripening and Initiation of Labor at Term. Obstet. Gynecol. 1992, 79, 374—379.
151. Stampe Sorensen, S.; Palmgren Colov, N.; Andreasson, B.; Bock, J.; Berget, A.; Schmidt, T. Induction of Labor by Vaginal Prostaglandin E2. A Randomized Study Comparing Pessaries with Vaginal Tablets. Acta. Obstet. Gyn. Scand. 1992, 71, 201—206.
152. Bugalho, A.; Bique, C.; Machungo, F.; Bergstrom, S. A Comparative Study of Vaginal Misoprostol and Intravenous Oxytocin for Induction of Labour. Gyn. Obstet. Invest. 1995, 39, 252—256.
153. Sawai, S.; O'Brien, W.; Mastrogiannis, D.; Krammer, J.; Mastry, M.; Porter, G. Patient-administered Outpatient Intravaginal Prostaglandin E2 Suppositories in Post-date Pregnancies: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Study. Obstet. Gyn. 1994, 84, 807—810.
154. Greer, I.; McLaren, M.; Calder, A. Vaginal Administration of PGE2 for Induction of Labor Stimulates Endogenous PGF2 Alpha Production. Acta. Obstet. Gynecol. Scand. 1990, 69, 621—625.
155. Mahmood, T.; Dick, M. A Randomized Trial of Management of Pre-labor Rupture of Membranes at Term in Multiparous Women Using Vaginal Prostaglandin Gel. Obstet. Gynecol. 1995, 85, 71—74.
156. Seeras, R. Induction of Labor Utilizing Vaginal vs. Intracervical Prostaglanding E2. Int. J. Gyn. Obstet. 1995, 48, 163—167.
157. Seeras, R.; Olatunbosun, O.; Pierson, R.; Turnell, R. Induction of Labor Using Prostaglandin E2 (PGE2) Vaginal Gel in Triacetin Base. An Efficacy Study Comparing Two Dosage Regimens. Clin. Exp. Obstet. Gyn. 1995, 22, 105—110.
158. Hill, N.; Ferguson, J.; MacKenzie, I. The Efficacy of Oral Mifepristone (RU 38, 486) with a Prostaglandin E1 Analog Vaginal Pessary for the Termination of Early Pregnancy: Complications and Patient Acceptability. Am. J. Obstet. Gyn. 1990, 162, 414—417.

159. Bugalho, A.; Bique, C.; Machungo, F.; Bergstrom, S. Vaginal Misoprostol as an Alternative to Oxytocin for Induction of Labor in Women with Late Fetal Death. Acta. Obstet. Gyn. Scand. 1995, 74, 194—198.
160. Creinin, M.; Vittinghoff, E. Methotrexate and Misoprostol vs Misoprostol Alone for Early Abortion. A Randomized Controlled Trial. JAMA 1994, 272, 1190—1195.
161. Diao, X.; Zou, S.; Quigg, J.; Kaminski, J.; Zaneveld, L. Comparative Vaginal Spermicidal Studies in the Stumptailed Macaque with Alkyloxynol-741, Nonoxynol-9 and Chlorhexidine. Contraception 1990, 42, 677—682.
162. Zavos, P.; Correa, J.; Zarmakoupis-Zavos, P. Assessment of a Tablet Drug Delivery System Incorporation Nonoxynol-9 Coprecipitated with Polyvinylpyrrolidone in Preventing the Onset of Pregnancy in Rabbits. Fertil Steril. 1998, 69, 768—73.
163. Psychoyos, A.; Creatsas, G.; Hassan, E.; Georgoulias, V.; Gravanis, A. Spermicidal and Antiviral Properties of cholic Acid: Contraceptive Efficacy of a New Vaginal Sponge (Protectaid) Containing Sodium Cholate. Human Reprod. 1993, 8, 866—869.
164. Bourinbaiar, A.; Lee-Huang, S. The Activity of Plant-derived Antiretroviral Proteins MAP30 and GAP31 against Herpes Simplex Virus In Vitro. Contraception 1995, 51, 319—322.
165. Chapvil, M.; Eskelson, C.; Stiffel, V.; Owen, J.; Droegemuller, W. Studies on Nonoxynol-9. II. Intravaginal Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion in Rats and Rabbits. Contraception 1980, 22, 325—339.
166. Walter, B.; Agha, B.; Digenis, G. Disposition of [14C] nonoxynol-9 after Intravenous or Vaginal Administration to Female Sprague-Dawley Rats. Toxicol. Appl. Pharmac. 1988, 96, 258—268.
167. Owen, D.; Dunmire, E.; Plenys, A.; Katz, D. Factors Influencing Nonoxynol-9 Permeation and Bioactivity in Cervical Mucus. J. Cont. Rel. 1999, 60, 23—34.
168. Baker, V.; Obstet. Gyn. Clin. N. Amer. 1994, 21, 271—297.
169. Handa, V.; Bachus, K.; Johnston, W.; Robboy, S.; Hammond, CB. Vaginal Administration of Low-Dose Conjugated Estrogens—Systemic Absorption and Effects on the Endometrium. Obstet. Gynecol. 1994, 84, 215—218.
170. Einer-Jensen, N.; Kotwica, J.; Krzymowski, T.; Stefanczyk- Krzymowska, S.; Kaminski, T.; Acta Vet. Scand. 1993, 34, 1—7.
171. Miles, R.; Paulson, R.; Lobo, R.; Press, M.; Dahmoush, L.; Sauer, M. Pharmacokinetics and Endometrial Tissue Levels of Progesterone after Administration by Intramuscular and Vaginal Routes: A Comparative Study. Fertil. Steril. 1994, 62, 485—490.
172. Kimzey, L.; Gumowski, J.; Merriam, G.; Grimes, G., Jr.; Nelson, L., Jr. Absorption of Micronized Progesterone from a Nonliquefying Vaginal Cream. Fertil. Steril. 1991, 56, 995—996.
173. Norman, T.; Morse, C.; Dennerstein, L. Comparative Bioavailability of Orally and Vaginally Administered Progesterone. Fertil. Steril. 1991, 56, 1034—1039.
174. Bulletti, C.; de Ziegler, D.; Flamigni, C.; Giacomucci, E.; Polli, V.; Bolelli, G.; Franceschetti, F. Targeted Drug Delivery in Gynaecology: The First Uterine Pass Effect. Hum. Reprod. 1997, 12, 1073—1079.
175. Sakaguchi, M.; Sakai, T.; Adachi, Y.; Kawashima, T.; Awata, N. The Biological Fate of Sodium Prasterone Sulfate after Vaginal Administration. 1. Absorption and Excretion in Rats. J. Pharmaco. Dyn. 1992, 15, 67—73.
176. Okada, H.; Yashiki, T.; Mima, H. Vaginal Absorption of a Potent Luteinizing Hormone-releasing Hormone Analogue (leuprolide) in Rats III: Effect of Estrous Cycle on Vaginal Absorption of Hydrophilic Model Compounds. J. Pharm. Sci. 1983, 72, 173—176.
177. Richardson, J.; Illum, L.; Thomas, N. Vaginal Absorption of Insulin in the Rate Effect of Penetration Enhancers on Insulin Uptake and Mucosal Histology. Pharm. Res. 1992, 9, 878—883.
178. Satoh, T.; Yoshida, G.; Orito, Y.; Koike, T. Drug Delivery System for the Treatment of Osteoporosis. Nippon Rinsho 1998, 56, 742—747.
179. Chen, S.; Reed, B.; Nguyen, T.; Gaylord, N.; Fuller, G.; Mordenti, J. The Pharmacokinetics and Absorption of Recombinant Human Relaxin in Nonpregnant Rabbits and Rhesus Monkeys after Intravenous and Intravaginal Administration. Pharm. Res. 1993, 10, 223—227.
180. Chen, S.; Perlman, A.; Spanski, N.; Peterson, C.; Sanders, S.; Jaffe, R.; Martin, M.; Yalcinkaya, T.; Cefalo, R.; Chescheir, N. The Pharmacokinetics of Recombinant Human Relaxin in Nonpregnant Women after Intravenous, Intravaginal, and Intracervical Administration. Pharm. Res. 1993, 10, 834—838.
181. Okada, H.; Yamazaki, I.; Ogawa, Y.; Hirai, S.; Yashiki, T.; Mima, H. Vaginal Absorption of a Potent Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analog (leuprolide) in Rats I: Absorption by Various Routes and Absorption Enhancement. J. Pharm. Sci. 1982, 71, 1367—1371.

Y

182. Okada, H.; Yamazaki, I.; Yashiki, T.; Mima, H. Vaginal Absorption of a Potent Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analogue (leuprolide) in Rats II: Mechanism of Absorption Enhancement with Organic Acids. J. Pharm. Sci. 1983, 72, 75—78.

183. Okada, H.; Sakura, R.; Kawaji, H.; Yashiki, T.; Mima, H. Regression of Rat Mammary Tumors by a Potent Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analogue (leuprolide) Administered Vaginally. Cancer Res. 1983, 43, 1869—1874.

184. Okada, H.; Yamazaki, I.; Sakura, Y.; Yashiki, T.; Shimamoto, T.; Mima, H. Desensitization of Gonadotropin- Releasing Response Following Vaginal Consecutive Administration of Leuprolide in Rats. J. Pharm. Dyn. 1983, 6, 512—522.

185. Okada, H.; Yamazaki, I.; Yashiki, T.; Shinamoto, T.; Mima, H. Vaginal Absorption of a Potent Luteinizing Hormone-releasing Hormone Analogue (leuprolide) in Rats. IV: Evaluation of the Vaginal Absorption and Gonadotropin Responses by Radioimmunoassay. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 298—302.

186. Han, K.; Park, J.; Chung, Y.; Lee, M.; Moon, D.; Robinson, J. Identification of Enzymatic Degradation Products of Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) / [D-Ala6] LHRH in Rabbit Mucosal Homogenates. Pharm. Res. 1995, 12, 1539—1544.

187. Livingston, J.; Lu, S.; Robinson, H.; Anderson, D. Immunization of the Female Genital Tract with a DNA-based Vaccine. Infect. Immun. 1998, 66, 322—329.

188. D'cruz, O.; Venkatachalam, T.; Uckun, F. Structural Requirements for Potent Humand Spermicidal Activity of Dual Function Aryl Phosphate Derivative of Bromomethoxy Zidovudine. Biol Reprod 2000, 62, 37—44.

189. O'Hagan, D.; Rafferty, D.; McKeating, J.; Illum, L. Vaginal Immunization of Rats with a Synthetic Peptide from Human Immunodeficiency Virus Envelope Glycoprotein. J. Gen. Virol. 1992, 73, 2141—2145.

190. Eldridge, J.; Staas, J.; Chen, D.; Marx, P.; Tice, T.; Gilley, R.; Sem. Hematol. 1993, 30 (Suppl), 16—24.

191. Yokoyama, M.; Zhang, J.; Whitton, L. DNA Immunization: Effects of Vehicle and Route of Administration on the Induction of Protective Antiviral Immunity. FEMS Immunology Med. Microbiology 1996, 14, 221—230.

192. Pertmer, T.; Robersts, T.; Hynes, J. Influenza Virus Nucleoprotein-specific Immunoglobulin G Subclass and Cytokine Responses Elicited by DNA Vaccination are Dependent on the Route of Vector DNA Delivery. J. Virology 1996, 70, 6119—6125.

193. Gramzinski, R.; Millan, C.; Obaldia, N.; Hoffman, S.; Davis, H. Immune Response to a Hepatitis B DNA Vaccine in Aotus Monkeys: A Comparison of Vaccine Formulation, Route and Method of Administration. Molecular Medicine 1998, 4, 109—118.

194. Franklin, R.; Kutteh, W. Characterization of Immunoglobulins and Cytokines in Human Cervical Mucus: Influence of Exogenous and Endogenous Hormones. J. Reprod. Immunology 1999, 42, 93—106.

195. Wang, B.; Dang, K.; Agadjanyan, M. Mucosal Immunization with a DNA Vaccine Induces Immune Responses against HIV-1 at a Mucosal Site. Vaccine 1997, 15, 821—825.

196. Bagarazzi, M.; Boyer, J.; Javadian, M. Safety and Immunogenicity of Intramuscular and Intravaginal Delivery of HIV-1 DNA Constructs to Infant Chimpanzees. J. Med. Primatol. 1997, 26, 27—33.

197. McCluskie, M.; Millan, C.; Gramzinski, R.; Robinson, H.; Santoro, J.; Fuller, J.; Widera, G.; Haynes, J.; Purcell, R.; Davis, H. Route and Method of Delivery of DNA Vaccine Influence Immune Responses in Mice and Nonhuman Primates. Molecular Medicine 1999, 5, 287—3000.

198. Bowen, J.; Alpar, H.; Phillpotts, R.; Brown, M. Mucosal Delivery of Herpes Simplex Virus Vaccine. Research Virol. 1992, 143, 269—278.

199. O'Hagan, D.; Rafferty, D.; Wharton, S.; Illum, L. Intravaginal Immunization in Sheep Using a Bioadhesive Microsphere Antigen Delivery System. Vaccine 1993, 11, 660—664.

200. Parr, M.; Parr, E. Antigen Recognition in the Female Reproductive Tract: I. Uptake of Intraluminal Protein Tracers in the Mouse Vagina. J. Reprod. Immunol. 1990, 17, 101—114.

201. Rush, C.; Hafner, L.; Timms, P. Genetic Modification of a Vaginal Strain of Lactobacillus Fermentum and its Maintenance within the Reproductive Tract after Intravaginal Administration. J. Med. Microbiol. 1994, 41, 272—278.

202. Thapar, M.; Parr, E.; Parr, M. The Effect of Adjuvants on Antibody Titers in Mouse Vaginal Fluid after Intravaginal Immunization. J. Reprod. Immunol. 1990, 17, 207—216.

203. Thapar, M.; Parr, E.; Parr, M. Secretory Immune Responses in Mouse Vaginal Fluid After Pelvic, Parenteral or Vaginal Immunization. Immunology 1990, 70, 121—125.

204. Waldman, R.; Cruz, J.; Rowe, D. Intravaginal Immunization of Humans with Candida albicans. J. Immu-

nology 1972, 109, 662—664.

205. Saltzman, W.; Sherwood, J.; Adams, D.; Haller, P. Longterm Delivery Systems and Biodistribution. Biotechnol Bioeng 2000, 67 (3), 253—264.
206. Uehling, D.; Hopkins, W.; Dahmer, L.; Balish, E. Phase I Clinical Trial of Vaginal Mucosal Immunization for Recurrent Urinary Tract Infection. Urology 1994, 152, 2308—2311.
207. Ogra, P.; Ogra, S. Local Antibody Response to Poliovaccine in the Human Female Genital Tract. J. Immunology 1973, 110, 1307—1311.
208. Smee, D.; Leonhardt, J. Vaccination against Bovine Herpes Mammillitis Virus Infections in Guinea Pigs. Intervirology 1994, 37, 20—24.
209. Ginsburg, J.; Hardiman, P.; Thomas, M. Vaginal Bromocriptine. Lancet 1991, 338, 1205—1206.
210. Baldock, G.; Brodie, R.; Chasseaud, L.; Taylor, T.; Walmsley, L.; Catanese, B. Pharmacokinetics of Benzydamine after Intravenous, Oral, and Topical Doses to Human Subjects. Biopharm. Drug. Disp. 1991, 12, 481—492.
211. Moodley, J.; Cohen, M.; Devraj, K.; Dutton, M. Vaginal Absorption of Low-dose Tranexamic Acid from Impregnated Tampons. S. African Med. J. 1992, 81, 150—152.
212. Banja, A. Therapeutic Peptides and Proteins: Formulations, Processing, and Delivery Systems; Technomic Publishing Co.: Lancaster, PA, 1995.

进一步阅读

Chien, Y. Novel Drug Delivery Systems; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992.

Lee, V. Peptide and Protein Drug Delivery; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991.

The Human Vagina; North Holland Publishing Co.: New York, 1978.

（罗华菲　宋浩亮　译）

药物输送：直肠给药

J. Howard Rtting

The University of Kansas, Lawrence, Kansas, U. S. A

引言

1. 给药途径

尽管口服给药是新药和剂型研发中最常采用的给药途径，但仍然存在有不可行或不尽如人意的地方。对于在胃肠道上端吸收困难以及对蛋白水解酶不稳定的活性成分来说，开发口服制剂的潜力非常有限，而一些药物成分会对胃局部或肠道上端产生刺激，或者所需的给药剂量超过500mg；一些患者，尤其是小孩、老人和吞咽困难的人，口服片剂和胶囊的用药非常困难。另外，对于有些疾病的治疗，采用在患病部位直接给药的方式效果显著，尤其是一些眼科疾病、耳部疾病、皮肤疾病、口腔和直肠疾病等。尽管口服给药可以靶向到达上述某些病变组织，但是由于药物是在整个身体内分布，因此药效往往很低，还可能会产生意想不到的副作用。相比之下，直肠给药则可以发挥局部和全身给药的作用。现在，直肠给药不仅已用来治疗局部的直肠疾病，而且还作为口服给药以外的选择用于全身给药。在本章中，作者将与大家讨论影响直肠给药的因素以及此种方式的优势和劣势。对过去5～7年药剂学文献的调查显示，在药剂界此种给药方式并没有引起充分的关注。文献报道[1~4]相对较少，新产品也没有占有显著的市场份额。尽管直肠给药未必能成为常用的给药方式，但是这种技术可以为一些特殊应用及治疗问题提供可选择的给药途径，并能成功用于药物输送。

2. 现有的直肠给药剂型

2.1 固体栓剂

固体栓剂是最普通的直肠给药剂型，占直肠给药制剂的98%以上。典型的栓剂呈鱼雷形，由低熔点的油脂基质或可溶解的水溶性基质组成，质量在1g（小儿用）到2.5g（成人用）之间。栓剂的组成主要由药物的理化特性和所要求的释放曲线来决定。亲脂性药物通常加入水溶性基质中，亲水性药物则通常采用油脂的基质。理论上，这种方法可以使药物最大限度地从栓剂基质释放到直肠或结肠下端。对于油脂性基质的栓剂，应在接近体温（37℃）的温度迅速熔融。理想状况下，基质熔化后很容易流动，并在直肠组织表面形成薄且广的覆盖层，因此避免了因为药物从基质中释放慢而引起的时滞效应。水溶性基质的栓剂应在37℃容易溶解，能促进药物的释放与吸收。对于既含脂溶性基质又含水溶性基质的栓剂，所含药物对熔融或溶解特性的潜在影响则需要做进一步的评价。表1列出了栓剂中所用到的油脂性基质与水溶性基质，尽管不是很全面，但可供制剂研究人员选择。

表1 栓剂的基质

基质载体	熔点范围/℃	凝固点范围/℃
脂溶性基质		
半合成脂肪酸酯	32～44	27～38
可可豆脂	30～35	24
硬脂	36～45	32～40
谷胱甘肽	29～50	26～40
半合成甘油酯	35～45	30～37
Agrasup A；H	35～40	—
水溶性基质		
卖泽51	39～42	39
PEG[1)]	38～49	38～42
吐温-61	35～49	—

1）摘自：Modern Pharamaceutics；Banker，G. S.，Rhodes，C. T.，Eds.；Marcel Dekker，Inc.：New York，Basel 1979。

2.2 溶液剂

主要由于使用不便以及患者的依从性差，以溶液剂、混悬剂、灌肠剂代表的直肠给药制剂的应用受到限制。在实际使用时，这些制剂常用作下消化道X射线照相术中的造影剂和显像剂。尽管在一些实例中显示[5]，溶液剂中药物的吸收超过了固体栓剂，但是溶液剂仍不常使用，具体的细节问题在这里不做讨论。最近，有研究使用液体制剂在体温形成凝胶的报道，这方面的研究将在凝胶剂/泡沫剂/软膏剂的小节中进行讨论。

2.3 凝胶剂/泡沫剂/软膏剂

在直肠给药剂型中，凝胶剂/泡沫剂/软膏剂比液体制剂更有优势，因为它们能在直肠腔中停留，减少了患者依从性差的问题。半固体制剂中药物的释放往往局限于局部疾病的治疗，如痔疮、肠道下端的炎症（直肠炎）。由于半固体制剂中药物没有熔化或溶解的这段时滞时间，所以药物从半固体制剂中的释放与起效通常比固体栓剂更快。

Miyazaki等[1]研究了从罗望子种子中提取的木糖型多糖制成的热可逆性凝胶。含1%～2%的木糖液体溶液在27～32℃时形成凝胶，随着木糖浓度的升高，胶凝温度下降。吲哚美辛和地尔硫䓬的体外释放是时间平方根的函数，并且当温度从10℃升高到37℃时，扩散系数也相应增大。凝胶中吲哚美辛的体外释放较慢，这一结果在体内试验中得到证实。在体内，吲哚美辛有更宽的吸收峰和更长的滞

留时间。但是，在生物利用度方面，吲哚美辛热凝胶制剂和传统的栓剂没有显著性差异。

Ryu 等[2]研究了黏膜黏附性的液体栓剂，这种栓剂结合了热凝胶聚合物的生物黏附特性。羟丙基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆、聚卡波非和海藻酸钠在热凝胶聚合物，如泊洛沙姆 407 和 188 中，都作为生物黏附剂使用。当黏膜的黏附力在 430～5800dyn/cm^2 之间时，可以使胶凝温度保持在 30～36℃。以普萘洛尔作为药物模型进行研究，随着黏膜黏附力的增加以及制剂移动的减小，药物的生物利用度增大。但是，生物利用度和胶凝温度之间并没有直接的联系。聚卡波非和海藻酸钠能产生最大的黏附力，也最大限度地提高了普萘洛尔的生物利用度。同时，海藻酸钠对直肠组织也未产生任何副作用。研究显示，提高制剂的生物黏附性，减少制剂移动是增加普萘洛尔生物利用度的主要因素。

Watanabe 等[4]报道，采用含有水溶性食物纤维、黄单胞菌胶和豆角胶的直肠用凝胶，可以减少对直肠的刺激并提高直肠的吸收度。在上述基质中，丁丙诺啡叔丁啡的生物利用度与在聚乙烯凝胶基质中相等，但前者基质中药物的吸收更快。药物的平均滞留时间随着胶体浓度的增加而增加。非常重要的一点是，以食物纤维为基质的凝胶对黏膜的刺激性远远小于以聚乙烯为基质的凝胶。

2.4 控释制剂

控释制剂的设计是以延迟或控制的方式释放活性成分。在这方面已经有相当多的研究，但影响还不显著。在人体的临床研究中显示，水凝胶作为可被人们接受的聚合物给药系统，已经被用来制备安替比林和茶碱的控释给药[6]。对于吸收良好的药物，临床研究表明，控释渗透泵给药系统能提供与静脉给药相当的全身药物输送[7]。因为直肠给药制剂的总体积明显超过口服制剂，以控释为目的的直肠给药有着明显的优势。然而，这里也存在一个主要限制因素，将药物设计成控制释放的剂型，会显著地增加剂型的总体积。因为成人的直肠剂型可重达 2.5g，所以直肠控释制剂总的载药量可以是口服制剂的 2～3 倍。对于一些治疗成分，更高的载药量可能比口服给药更具有优势。但是，由于有些患者不愿接受这种给药方式，从而产生依从性差等问题，因此直肠控释制剂的开发和上市仍然存在一些劣势。

2.5 上市药品和治疗分级

目前，在美国只有有限的一部分治疗药物开发成直肠给药制剂上市。据美国医院制剂服务机构 1994 年的调查显示，市场上有 19 个药物成分，用于全身治疗（表 2），15 个用于局部胃肠道治疗（表 3），其中包括诊断用的影像试剂。许多用于治疗胃肠道局部炎症和痔疮的产品都是非处方药。很显然，因为这些用于直肠给药的治疗成分很有限，所以这种给药形式并不是医生治疗时主要选择的方式。

表 2 美国上市的全身作用的直肠给药制剂

治疗分类和药物	药物载药量，固体[1]/mg
抗组胺药	
异丙嗪	12.5～50
抗偏头痛药	
麦角胺	2
非甾体抗炎药	
阿司匹林	60～1200
吲哚美辛	50
镇痛药	
二氢吗啡酮	3
吗啡	5～30
鸦片	30～60
氧化吗啡酮	5
乙酰胺基酚	120～650
失眠药	
戊巴比妥	30～200
水合氯醛	325～650
异丙嗪	12.5～50
镇定药	
氯丙嗪	25～100
氯吡嗪	2.5～25
支气管扩张药	
氨茶碱	105
止吐药	
硫乙哌丙嗪	10
三甲氧苯酰胺	100～200
高血钾药	
聚磺苯乙烯	1250[2]
门静脉系统脑病	
乳醛糖	可变[3]

注：来源于 McEvoy，GK.，Ed. American Hospital Formulary Service；American Society of Hospital Pharmacists，Inc.：Bethesda，MD，1994。

1）除其他地方提到的。

2）混悬剂。

3）溶剂。

表 3 美国已上市治疗胃肠道疾病的直肠给药制剂

治疗分类和药物	载药量	剂型
松弛药		
番泻叶	30mg	固体
甘油	4mL	固体或液体
矿物油	—	液体
酒石酸钾		固体
磷酸二钠	—	溶液
多库酯钠	—	混悬液
痔疮		
氢化可的松	100mg	混悬液或霜剂
乙酸氢化可的松或丁酸氢化可的松	—	气雾剂，泡沫剂，混悬液
二丁卡因	—	药膏
Proxamine	1%	药膏
直肠炎，大肠炎		

Y

续表

治疗分类和药物	载药量	剂型
颠茄	16.2mg	固体
美沙拉嗪	500mg	固体
肠性痢疾		
新霉素	—	灌肠剂
成像成分		
硫酸钡	5%～70%(w/w)	混悬液
泛影酸	60%～66%(w/w)	溶液剂

摘自：McEvoy, G. K. Ed., American Hospital Formulary Service; American Society of Hospital Pharmacists, Inc.; Bethesda, MD, 1994。

2.6 广泛的市场

在世界上一些地区，尤其是欧洲的一些国家和日本，直肠给药得到了更多患者的认可，因此在这些国家，直肠给药的开发已经超过了美国。根据1970年的一项调查显示，在法国，大约7.5%的处方采用直肠给药制剂[8]。尽管在一些国家可以发现，直肠给药制剂得到了更多人的接受，但这仍表明在广泛的市场份额中只有一小部分市场能够采用直肠给药方式进行治疗。

与直肠给药系统相关的生理与制剂问题

1. 直肠组织的生理和生化特性

1.1 解剖学的考虑

不像小肠和上结肠，直肠的脉管系统没有完全将血液输送到肝脏[9]。在下端和中端的直肠静脉第一次进入大循环时至少部分绕过门静脉，可以使药物在被肝脏代谢和排泄之前得到吸收，并发挥全身作用。临床研究显示，利诺卡因、普萘洛尔和水杨酰胺的直肠给药比口服给药的生物利用度更高[10]。直肠腔内同时也有更广泛的淋巴循环参与，从而更有利于药物的吸收和全身分布[11]。

尽管直肠和结肠组织中没有广泛的绒毛和微绒毛，但有足够的表面积可以使易穿透的药物得到吸收。相对于小肠的频繁运动，直肠和结肠的运动就很缺乏，使其具有另外的优势，即可以在吸收表面维持一个最大限度的浓度梯度。下结肠的液体容量很有限，特别是无排泄物存在时仅有2～3mL的不流动黏液，直肠和下结肠这种静态的环境所提供的区域比起小肠来，能够保持更高的药物浓度。但是这也存在对药物吸收的不利影响，由于结肠和直肠部位的细胞间复合连接体比小肠更紧密[12]，这样就减少了小分子的水溶性药物不穿过小细胞膜，而通过渗透进入分子间隙，从而进入系统循环的机会。

1.2 生物化学

上皮细胞基本的细胞代谢机理很普通，因此药物通过直肠或结肠黏膜屏障时发生的细胞内代谢与在小肠内的代谢相似。小肠腔和上皮细胞层顶膜所发生的药物代谢的主要区别就是各自的代谢酶不同。因为结肠和直肠没有消化功能，所以由小肠上端分泌的肠腔内的酶没有呈现出明显的作用。一些易被蛋白水解而不稳定的药物，如多肽和蛋白质，如果在直肠或结肠下端释放，稳定性会更好。Saffran等的研究显示，后叶加压素——一种易被蛋白水解的物质，当以直肠途径给药，其活性比口服给药更强[13]。在吸收促进剂作用下，生长激素[14]和胰岛素[15]的直肠吸收有明显增加。小肠上皮细胞层的顶膜有高浓度的膜相关性酶，如肽酶和糖酶，但是在直肠腔的上皮细胞表面其数量却不多。当释放的药物容易受到酶降解时，细胞膜表面这种酶的缺少对药物的吸收可能会有一定的帮助。但是这些膜相关酶却是某些特殊的营养物质，特别是氨基酸和糖类物质的运输载体。在小肠组织中存在有很多维生素的运输载体。结肠和直肠内这些转运载体的相对缺乏[16]，减少了直肠给药时以此种机理进行的药物吸收。尽管大部分氨基酸、糖酶和维生素有相对特殊的结构和转运需要，但是在结肠和直肠内这些载体系统的缺失，只能对那些结构与酶底物相似的药物的吸收造成一定的影响。

直肠腔内的pH基本呈中性，范围为7～8。与小肠的环境相比，缓冲容量小。栓剂和溶液剂都保持一个特定的pH，以便在给药后使药物的吸收达到最大。这对于在中性环境下渗透性好的药物是有益处的。但是要记住，整个小肠和大肠中黏膜层下的上皮细胞表面的pH都控制在6.0～6.5。尽管肠腔内的pH有利于药物的吸收，也有利于药物从肠腔向细胞层屏障扩散，但对细胞屏障有效的pH与肠道其他区域相比并没有显著的差异。从这一点看，直肠给药的pH优势，可能会被黏膜组织表面的pH所削弱。

2. 模型系统和技术

2.1 整体动物模型

通过大鼠模型可以对药物的直肠吸收进行初步的体内评价[17,18]。采用外科麻醉法麻醉动物120～180min，就可以将药物溶液或栓剂直接灌入动物直肠腔。在水平面之上轻微抬高大鼠，大约有0.25mL药液可直接进入直肠而没有液体的损失。采用线缝合或压力夹也可以防止药液从直肠中流出。在大多数情况下，试验之前动物需要禁食12～16h，这样可以避免直肠内的排泄物对溶液给药和药物自身吸收的影响。在大鼠模型中可以使用特殊的模具制成小剂量的微栓，但是在这些微栓剂中必须注意要保证药物含量的一致性。另外，由于栓剂基质的选择会影响到药物的吸收，因此这是在对药物的直肠给药吸收的任何一项分析中都需要考虑的因素。

家兔是研究直肠给药的另外一种动物模型。尽管这种

动物模型在试验时可以考虑给予更大的药物体积，如固体或液体，但使用这种动物的局限性与使用大鼠时所遇到的情况类似。一个很明显的缺点就是家兔的结肠比其他种群的结肠更容易漏液。基于这一点，在这种家兔模型中，一些小分子的水溶性药物通过水分流动实现细胞间转运，从而会有高的药物吸收。

为了研究和评价人使用的直肠给药制剂，Beagle 犬为理想的动物模型[18,19]。固体栓剂（最高质量达 2.5g）或微型灌肠剂（最大体积达 5mL）很容易在 Beagle 犬模型上进行试验而不必考虑制剂载体从直肠腔中的流失。因为狗的直肠的大小和人的相似，所以就可以对一些变量，如栓剂基质的扩散进行很好的评价。犬对于采血样和药代动力学研究是个很好的模型，因此很适合用来研究直肠给药制剂。作者和其他人的研究结果显示，在 Beagle 犬模型的试验中，制剂的一些性能指标可以对人体临床试验进行精确的预测[20]。

2.2 体外模型

为了评价候选药物的吸收情况，或者评价药物结构与转运之间的关系，体外研究模型是最好的方法。组织-扩散细胞系统模型和培养的结肠细胞模型已经被证明特别有用。

很多研究者使用了设计不同的扩散池（如 Ussing 池、Sweetana-Grass 扩散池）来评价候选药物的渗透特性[21,22]。这种系统提供了明显的优势，使药物溶液可以在不同条件下（如不同的浓度、pH、赋形剂）加入到供给池中。样品可以定期从接受池中取出，然后对药物和代谢产物进行分析，并可以得出药物穿透细胞屏障的真实数据。在扩散池研究的操作过程中，将下面的肌肉层拨开，然后将完整的黏膜细胞层安放在扩散池中。因为在正常的生理环境下，下面的肌肉层不是屏障，这种方法更真实地反映了黏膜细胞层对药物转运的屏障作用。需要强调的是，在许多试验中，正常覆盖在黏膜细胞层上的黏液层可以被物理操作裂解和移走，所以在试验时需要设计一个模拟黏液组织被自然清洗的过程。对于经黏膜扩散的药物来讲，黏膜扩散是转运的限速过程，如果不能保护好黏液层，从这种模型中得到的药物渗透数据则会偏高。相反，若要确定药物真正的细胞渗透性，使用溶黏蛋白剂则可以确保在试验中形成无黏液的细胞层。作者的实验室的研究表明，Sweetana-Grass 扩散细胞模型和无肌肉黏膜层能够抵制实验条件对研究的影响。pH 可以在 5～8 内的变化且对黏膜没有明显的破坏。另外，一些赋形剂，如 DMSO 或乙醇，用量若不超过 10%（体积分数），可以用来增加难溶性药物的溶解度从而促进吸收。最后，实验结果显示，无肌肉的黏膜带在 37℃120min 内仍能保持很好的活力，但是这应该由使用此模型的每个实验室通过实验来确定，以确保受损组织不会对药物的转运造成影响，特别是标准酶活力测定和显微镜检测，都适宜用来分析组织的活力。

另外一种体外模型在对药物转运的研究过程中得到了很好的发展，这种模型能够为直肠或结肠药物吸收提供有价值的信息，这种模型就是培养的单细胞模型。HT-29 和 Caco-2 是这种研究常用的细胞模型[20,25]，二者都是人结肠癌细胞，能够在膜纤维上生长，并能形成具有紧密联合体（$>250\Omega \cdot cm^2$）的合生单层细胞。它们可以用于与扩散池模型类似的实验设计。这些细胞是非黏膜分泌细胞群，在许多代谢特性方面类似胎儿的小肠细胞。虽然这些细胞可以用来定量分析药物在结肠细胞中的转运，但仍存在一定的局限性。首先，比起体内环境，合生单层细胞的水通路明显减少。换句话说，有电阻探测到的细胞间通路比正常结肠或直肠组织渗漏性更少，而药物通过细胞间通道发生的药物吸收在药物转运的相关研究中可能被低估。其次，在小肠上皮细胞上存在的载体系统，如维生素、二肽，在这些细胞中也存在[26,27]，这样可能为利用这些载体的药物在直肠中的吸收提供误导的信息。最后，这些是被转化的细胞，与在正常的结肠或直肠组织中看到的相比，可能或不可能存在酶代谢载体。由于在吸收过程中药物可能在体内发生代谢，也可能不发生代谢，所以在对药物转运研究中发生母体药物代谢的试验数据进行解释时，这是必须注意的问题。

3. 与口服给药系统相比所具有的优势

3.1 提高药物对酶的稳定性

众所周知，许多口服药物尤其是多肽和蛋白质，由于吸收差和（或）在胃和小肠上端稳定性差，口服给药受到限制。药物经口服后，胃和小肠内的大量蛋白水解酶和其他酶类引起药物的降解，从而影响药物的有效吸收。如前面所讨论的，在直肠中这些降解酶很少，因此一些不能口服给药的药物可以从直肠给药，从而减少了酶对药物的降解。这些药物有后叶加压素[13]、生长因子[14]、胰岛素[15]。同时，在生长激素和胰岛素中加入吸收促进剂也很有必要。

3.2 部分避免肝脏首过效应

直肠动脉为直肠提供了丰富的血液供应。这些血液至少通过三条静脉排出[28]，药物吸收主要集中在这些静脉网中。尽管这些静脉由于互相吻合有很多交叉在一起，但通常认为下一级静脉和中级静脉汇入更下一级的腔静脉。这就可以使药物通过这条途径得到吸收，部分绕过了门静脉及肝脏的首过效应。de Boer 和 Breimer[10] 的研究显示，直肠给药时利诺卡因的生物利用度比口服给药高 2 倍，这表明大概有一半经直肠给药的药物避免了肝脏的首过效应。临床研究结果显示，普萘洛尔和水杨酰胺的直肠给药制剂比口服制剂有更高的生物利用度[10]。大鼠的在体研究表明，直肠给药可以全部避免肝脏首过效应。例如，在大鼠直肠中无限制地灌注硝酸甘油，生物利用度大约为 27%，而口服仅为 2%。如果药物分布在从肛门算起限制在 2cm 长度的直肠内，生物利用度则可增加到大约 90%[29]。

人体直肠给药可以部分避免药物进入门静脉系统，这一事实表明，开发胰岛素的直肠给药制剂比非肠道给药更

Y

具有优势[30]。研究显示，输送胰岛素通过肝门血液循环系统比皮下注射到达外周的细胞更具有生理学意义。

3.3 更高的载药量

通常，口服片剂的剂量不超过 1g，而成人用栓剂可达到 2.5g，这取决于栓剂制备时所需的其他赋形剂的情况，可以将制剂的载药量增加 2～3 倍。

3.4 淋巴转运

一些研究表明，直肠给药后很多药物通过淋巴循环系统进行转运。例如，Caldwell 等[11]研究了水溶性药物在水杨酸盐类吸收促进剂的存在下，直肠吸收后经淋巴转运的重要性。他们观察到酚红经静脉注射后血浆中的药物浓度和淋巴（从胸导管收集）中的浓度相近。他们进一步发现，当用 5-甲氧基水杨酸作为辅料时，经直肠给药，酚红在淋巴内的浓度比相应的血浆浓度高 100 倍。当 5-甲氧基水杨酸和酚红经直肠大鼠给药，胸导管完整的大鼠血浆中的酚红的浓度是淋巴管被摘除的大鼠的 5 倍。如图 1 所示，胰岛素也同样通过淋巴系统进行转运，但是茶碱则显示出很低的淋巴转运。

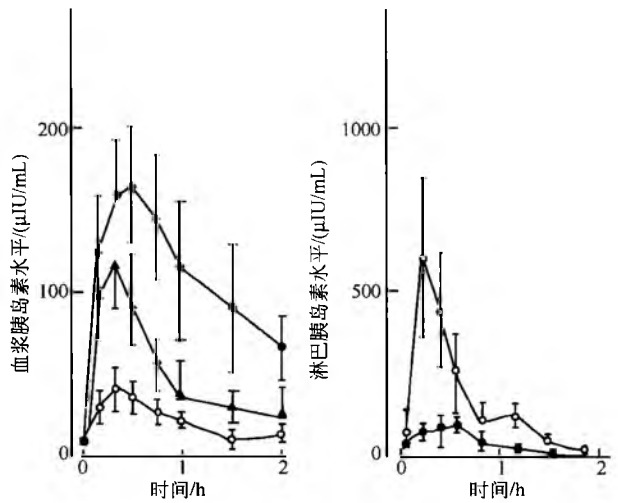


图 1 肌内注射胰岛素后（0.8IU/只），大鼠血浆和淋巴液中的胰岛素浓度水平（●）；以 5-甲氧基水杨酸为辅料（10mg/只），大鼠直肠给药后（2.0IU/只），从胸导管收集的血浆中胰岛素的浓度水平（▲）；以 5-甲氧基水杨酸为辅料（10mg/只），大鼠直肠给药后（2.0IU/只），从胸导管收集的淋巴液中胰岛素的浓度水平（○）

3.5 稳定的静态环境

和口服给药途径相比，直肠给药为药物的吸收提供了更稳定的环境。口服给药在吸收前根据药物及吸收部位的不同，必须经过一系列的环境变化，包括穿过胃、小肠、大肠、结肠。当药物经过这些环境时，胃肠道内的 pH 和吸收部位发生了明显的变化，由此导致一系列更复杂的条件影响药物的吸收，而相比之下，直肠是胃肠道中的一小段，拥有相对稳定的吸收环境有利于药物的吸收。

3.6 适用于吞咽困难的患者

对于一些患者，特别是小孩和老人，存在吞咽困难及对口服药物感觉不适等问题，通过直肠给药可以消除上述困难。对于那些胃肠道紊乱或手术后经常出现口服药物困难的患者，在这种情况下，采用直肠给药是一种较佳的选择。

3.7 避免超剂量

对于一些患者和服用一些药物，如某些止痛药，人们担心口服制剂可能会发生严重的不良事件或人为的超剂量。直肠给药可以减少这种危险的发生。因为对于患者来讲，吞服药片很容易，但是要使用大量的栓剂却很困难，这样就可以给那些特别担心药物超量的患者使用直肠给药。

4. 与口服制剂相比存在的劣势

4.1 患者的接受程度和依从性

在许多国家的传统文化中，像美国等，人们不愿意接受直肠给药，这导致在制剂市场中形成一种趋势，避免使用直肠给药的制剂，除非有显而易见的情形表明其他制剂确实存在有明显的不利因素。通常情况下，接受和使用栓剂或直肠给药剂型很不方便，因此患者的依从性差。这是多数直肠给药的剂型需要认真考虑的问题。

4.2 非特定的药物流失

至少存在两种常见的问题会导致直肠给药时药物的流失。首先，为使药物有效吸收，药物必须在直肠内滞留一段时间。如果制剂过早地从直肠处流失，药物的吸收将减少。一项对儿童的研究表明，硫喷妥钠栓剂在 40min 内被排泄，有效血浆水平的保持时间少于 2h。反之，栓剂在直肠内滞留时间延长，有效的血浆水平能保持大约 24h。

其次，药物或一些重要的赋形剂可以和排泄物或直肠内的液体产生相互作用，这也会减少药物的吸收，降低药效。

4.3 直肠内的液体

据报道，直肠内的液体约有 3mL。相对于口服药物在胃肠道内接触的液体，直肠给药更少。如此小体积的液体限制了药物的溶出，尤其是那些水溶性偏低的药物，同样也限制了药物从水溶性基质中的迅速溶出和释放。在这里，这种水溶性基质的溶解被认为是药物释放的一个限速步骤。

4.4 制剂

许多制剂方面的因素可能会导致直肠给药时药物吸收困难，如基质的熔化和液化。药物在基质中的溶解度、药物粒径的大小、基质的扩散能力、直肠温度下载体与赋形剂的黏性、药物在赋形剂中的滞留等，都能影响药物的释

放和吸收，而且药物的 pK_a、直肠液体的 pH、缓冲溶液、直肠液体的缓冲能力以及药物的分配系数都能够影响药物的吸收，在栓剂或其他剂型的处方设计中必须加以考虑。储存温度、时间和条件也会严重影响药物的稳定性和从直肠制剂中的行为释放。上述的每一项因素都是直肠给药制剂在开发、生产和销售过程中可能遇到的困难。

4.5 费用

栓剂和其他直肠给药剂型比简单的片剂制备和开发成本高。因此，栓剂通常使用较少，除非有特殊的需要或有明显的优势。近来技术的发展使栓剂的制备更便捷，从而降低了栓剂的制作成本。

5. 用于直肠给药的药物分类

表 2 和表 3 显示了目前美国已经上市的直肠给药药物。除了一些药物通过直肠给药发挥局部作用外，许多药物可以通过直肠给药发挥全身作用，如肝脏首过效应很高的药物、主要通过淋巴吸收的药物、需要相对高治疗剂量的药物等。通常，药物剂量若每片超过 500mg 则不易进行口服，此时有可能通过直肠给药。

尽管目前上市的产品中不包括蛋白质和多肽类药物，但有文献报道了蛋白质和多肽类物质的直肠吸收。这些蛋白质和多肽通常需要在制剂中加入促渗剂以帮助药物的吸收。在直肠有明显吸收的蛋白质和多肽类药物包括胰岛素、溶菌素、降钙素类似物、苯基丙氨酸、二苯丙氨酸、三苯丙氨酸和四苯丙氨酸以及胃泌激素、五肽促胃酸激素和四肽胃泌激素等[31]。

药物的吸收和吸收调节

1. 直肠药物吸收的控制和调节

1.1 pH 分配

直肠的药物吸收机理同胃肠道其他部位相似，属于被动扩散。药物处于非离子状态和中性状态时最容易穿透直肠黏膜而被吸收。具有高分配系数（偏脂溶性）的药物容易被吸收。但是有不同观点的文献报道离子化的药物也可同时吸收。这是指相对分子质量相对较小的药物。如果药物在正常的生理 pH 环境下呈现非离子状态，当其他因素同等时，药物的吸收有所增加。

1.2 溶解度

如前所述，直肠内液体量非常少。在大多数情况下，药物在吸收之前需要溶解在直肠液体中。这就要求药物必须有很好的溶解度才能从直肠有效地吸收。Voigt 和 Falk[32]研究了 35 种不同的化合物，发现其水溶性和释放速率之间存在直接的关系。通常，药物处在一个相对低溶解度的状态（如中性酸）或更高的水溶性状态（如钠盐），药物在直肠内液体中的溶解度越高，溶解速率也越高，吸收就越好。这种因素应与下述现象相互平衡，即非离子化药物更容易透过直肠黏膜。

药物的溶解度也影响对栓剂基质和其他赋形剂的选择。通常，药物在基质熔化和溶解后被保留在基质中的趋势很小，因此水溶性的药物最容易从脂溶性基质中释放，而脂溶性的药物则容易从水溶性基质中释放。

1.3 分子的大小

小分子的药物更容易被吸收，而对于大分子药物，已经发现有一些协助转运或促渗剂的使用可以增加直肠的药物吸收，同时也可以增加其他给药途径的药物吸收。

1.4 电荷

在多数情况下，带电荷的分子比中性分子更不易通过直肠黏膜。这种情况可以通过改变 pH，或者让药物与另外的分子和离子相互作用以中和电荷来得到解决。例如，使用离子对试剂，有望克服带电物质的这种缺点。从溶解度的角度考虑，应优选带电的分子。通常，保持高溶解度和直肠黏膜的渗透性之间的平衡是可以实现的，这就需要一些折中的方案。通常情况下，体内差异比体外小。另外，促渗剂能够提高相对大分子的水溶性药物的吸收。

1.5 非特异性吸收

当固体到达药物载体和直肠液界面时，固体的表面特性会显著影响药物的吸收。润湿程度表现为接触角，由表面活性剂与载体或直肠内液体相互作用时所产生的表面张力引发或改变而来，它对药物的溶解度和吸收有显著的影响，可增加药物的利用度。另外，吸附和复杂制剂中的表面活性剂也可以降低药物的吸收和利用。

1.6 制剂的铺展

为了使吸收达到更佳效果，栓剂和载体的迅速熔化/溶解并铺展在直肠壁上是非常重要的，所以载体流变学的特性能显著影响药物的释放及药物与直肠黏膜接触的能力。一些研究者建议，载体的黏性对于药物从载体释放是非常重要的。比较栓剂基质的铺展行为和油水分配系数之间的关系，已有的研究对此并未下结论。尽管铺展的状况可以直接决定药物释放的面积，但仍然有一些困难，如果铺展的面积太大尤其是扩散到直肠的上部，药物的浓度和热力学特性将会降低，这将导致药物从直肠和肛门静脉上部吸收而进入门静脉，使首过效应增加。

Yahagi 等[3]报道了使用独特的二相栓剂减小铺展面积增加利多卡因的生物利用度。栓剂的前相包括 Witepsol-H15、聚羧乙烯 934P 和蜡，后相或药物的释放层包括 Witepsol-H15、聚羧乙烯 934P 和利多卡因。聚羧乙烯提供生物黏附性，蜡提供了物理强度。这种制剂显著延长了血浆中利多卡因浓度的维持时间，增加了生物利用度。作者建议，提高制剂的保留时间（通过生物黏附降低制剂的迁

移）和减慢药物的释放可以最大化地避免静脉的吸收从而降低肝脏的首过效应。这种方法对于首过效应大的药物可以证明是有效的。

2. 药物吸收的优化

2.1 吸收促进剂

在过去的 20 年，多种成分已经被确定可以显著增加药物在胃肠道内的渗透和吸收。各种吸收促进剂的直肠促进机制得到广泛的讨论与研究[33]，如酰基肉毒碱[19]、酰基胆碱[19]、水杨酸盐[34]、胆盐[35]、吩噻嗪衍生物[36]、烯胺[37]和脂肪酸[38]等。一些强螯合物和吩噻嗪的出现提高了高、低相对分子质量的药物的直肠吸收，这种吸收以一个稳定的速率穿过细胞间。马来酸二乙酯通过跨细胞途径促进低相对分子质量的药物的吸收。研究发现，各种水杨酸盐、二乙基乙烯丙二酸和各种脂肪酸可以通过细胞间和跨细胞途径增加吸收。直肠制剂最适合药物和吸收促进剂共同使用。

作者的研究结果表明，药物和吸收促进剂本身的释放特性对于药效的发挥非常重要[19]。像酰基肉毒碱和酰基胆碱，通过增进渗透导致吸收增加效果是短暂的，在给药后 30～60min 其活性几乎消失。为了充分利用短时间内增加的药物渗透，药物和吸收促进剂同时存在于黏膜层是非常重要的，以保证有足够的浓度来影响渗透压的变化。直肠腔内低运动性和有限的液体量正好满足了这种需要。当口服给药时，吸收促进剂起的作用小于直肠给药时的作用，这大概是由于药物与促进剂的迁徙和被稀释的原因。直肠给药途径比口服更容易获得药物与促渗剂必要的暂时及局部剂量。设计直肠的固体栓剂和性能评价，必须研究二者的释放特性，这增加了制剂工艺的复杂性。像前述研究表明的，头孢西丁钠和水杨酸盐促进剂的直肠制剂已经获得了成功。研究结果表明，抗生素和促进剂制成的栓剂显示了与抗生素肌内注射剂相同的生物利用度。水杨酸盐也同样能够增加蛋白质的直肠吸收，如图 2 所示的胰岛素。作为口服给药的替代途径，栓剂为患者顺从性和非临床给药提供了确切的优势。

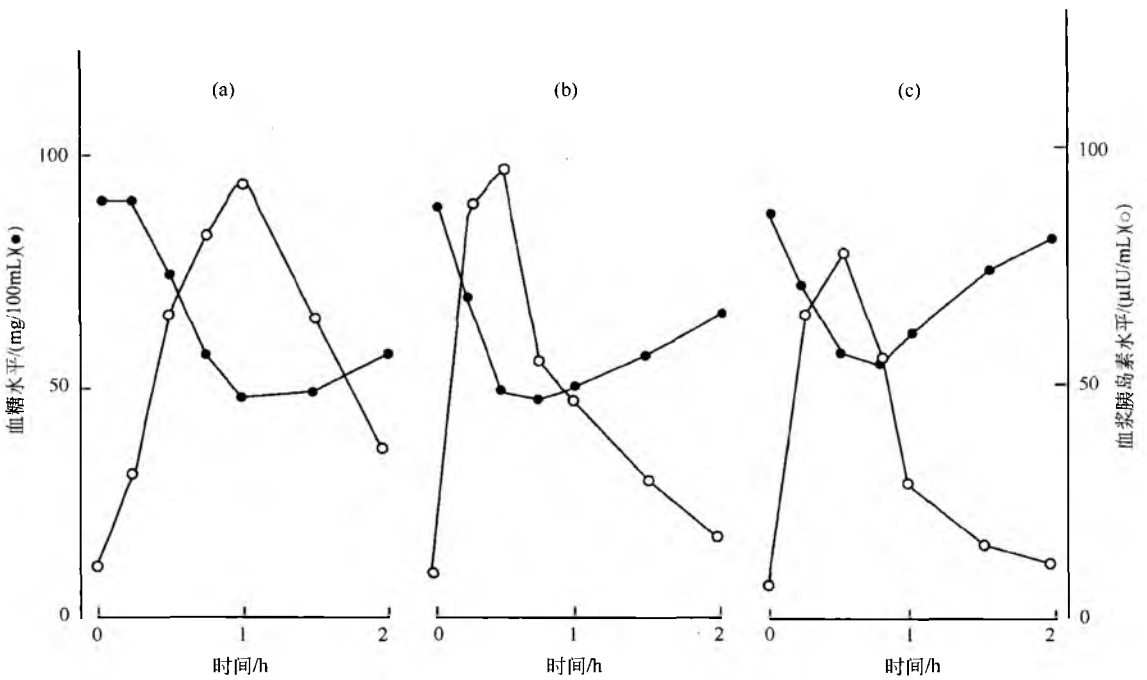


图 2 （a）肌内注射胰岛素（10IU）后，狗血浆中葡萄糖（mg/100mL）和胰岛素浓度（μIU/mL）；（b）微型灌肠剂给药 0.5mL 后（20IU 胰岛素和 150mg 5-甲氧基水杨酸钠溶于含 4%明胶的 0.9%NaCl 溶液中），狗血浆中葡萄糖和胰岛素的浓度；（c）微型灌肠剂给药 0.5mL 后（20IU 胰岛素和 300mg 5-甲氧基水杨酸钠溶于含 4%明胶的 0.9%NaCl 溶液中），狗血浆中葡萄糖和胰岛素的浓度

2.2 pH 控制

如前讨论的，直肠液体的 pH 对直肠内药物的吸收有明显影响。因为直肠液有相对低的缓冲容量，而且体积很小，所以可望用制剂中的内容物控制 pH。在此基础上，研究人员可以根据药物的 pH 与合适的缓冲溶液以及其他辅料控制 pH。据报道[40]，在人体直肠灌注中，一个缓冲能力为 0.1 的溶液足以保持肠道的 pH 为 5.9。在这项研究中，除去灌注液后，pH 以每分钟 0.5 个单位的速度恢复。机体在吸收部位通过分泌物继续维持相对稳定的 pH，但是

在给予有明显缓冲能力和不同 pH 的直肠制剂后，还需要一些时间才能恢复到正常的 pH。

2.3 增溶剂

增溶剂可以通过增加药物的溶解度和调节直肠内液体的黏性及基质与液体表面张力而增加药物从栓剂基质的释放。除了增溶剂或表面活性剂对药物和基质的作用外，表面活性剂也对直肠膜表面的黏液层有作用。它可以通过降低黏液层的厚度来增加吸收，或者作为渗透促进剂破坏直肠黏膜而增加膜的通透性。Nishihata 等[39]报道了，月桂酰硫酸钠与直肠黏膜中的脂质成分在短期内产生不可逆的相互作用。另据报道[41]，各种代谢抑制剂对表面活性剂聚氧乙烯 23-月桂醚的促进效果影响很小。但是，没有确切报道，阐明多种因素同时作用影响药物吸收的复杂性。对于油性基质，使用增溶剂降低基质黏性可以促进直肠给药制剂的吸收。

2.4 黏度调节剂

直肠黏膜的腔内压力可作为切应力，并影响物质的流变学特性，表现出塑性和假塑性行为。在直肠切应力作用下基质所产生的黏性比栓剂的屈服值更重要是有可能的。基质黏性在药物的释放过程中至关重要，物质的熔化行为符合牛顿流体。通常，黏性越低，药物从基质中的释放越迅速和越完全，药物的吸收就越高。

直肠给药制剂的前景

1. 市场潜力

即使在最好的条件和治疗需要下，直肠制剂仍然只是口服制剂的补充。考虑到患者的接受性和依从性、栓剂基质的冷藏需求、定量的不方便等因素，直肠制剂不太可能在制剂市场中占有主导地位。但是在某些特殊的治疗领域，直肠给药有显著的意义，它可以满足口服制剂所不能满足的患者的需求。

2. 口服制剂不能满足治疗需要的地方

对于一定的患患者群，口服制剂有时不太理想或不可行。一些手术后使用的抗生素因其药物性质和吸收受限制而不能通过口服给药，或者住院患者因吞咽困难而无法接受口服给药。这时采用直肠给药方式，其药物含量比口服制剂高，而且就医患者可以轻松用药，这为虚弱患者采用非注射给药代替注射给药提供了一个富有吸引力的选择。同时，直肠给药可以用于术后止痛，稳定患者情绪。

小孩和老人在口服药物时会出现吞咽困难的问题，所以在儿科治疗时这样的制剂市场非常有限。尽管老年人直肠给药制剂的开发还不是很完善，但是随着这部分人群的增长，对于替代口服给药的需求将增长，这将促进直肠给药制剂的开发。

如前所述，两种类型的药物最适合开发成直肠制剂。给药剂量高的药物，如许多抗生素，是开发直肠给药理想的候选品种，在达到所需药物浓度的情况下，可以减少多次服用的需要。那些作为上部的胃肠道蛋白水解酶底物的药物，尤其是蛋白质和多肽，如果能够提高它们的吸收曲线，开发成直肠给药则可以有很好的应用。最后，在某些实际情况下，首过效应限制了药物的使用，而直肠给药制剂则是最好的选择。

总结

虽然直肠给药是治疗疾病的药学的一小部分，但它的应用有望增加。尽管直肠给药并不是药物输送途径中的一线方式，但是当开发蛋白质和多肽类药物的给药途径所面临的压力日益增加时，直肠给药可以为这些问题的解决提供方案。从药物稳定性的角度考虑，直肠和结肠内蛋白水解酶的活性低，这有希望帮助活性成分达到细胞膜的有效浓度。随着技术的发展，活性成分在胃肠道组织的渗透性将有所提高，直肠给药将成为一种应用更广泛的给药途径。

参考文献

1. Miyazaki, S.; Suisha, F.; Kawasaki, N.; Shirakawa, M.; Yamatoya, K.; Attwood, D. Thermally Reversible Xyloglucan Gels as Vehicles for Rectal Drug Delivery. J. Controlled Release 1998, 56, 75－83.
2. Ryu, J. M.; Chung, S. J.; Lee, M. H.; Kim, C. K.; Shim, C. K. Increased Bioavailability of Propranolol in Rats by Retaining Thermally Gelling Liquid Suppositories in the Rectum. J. Controlled Release 1999, 59, 163－172.
3. Yahagi, R.; Onishih, H.; Machida, Y. Preparation and Evaluation of Double-phased Mucoadhesive Suppositories of Lidocaine Utilizing Carbopol and White Beeswax. J. Controlled Release 1999, 61, 1－8.
4. Watanabe, K.; Yakou, S.; Takayama, K.; Isowa, K.; Nagai, T. Rectal Absorption and Mucosal Irritation of Rectal Gels Containing Buprenorphine Hydrochloride Prepared with Water-soluble Dietary Fibers, Xanthan Gum and Locust Bean Gum. J. Controlled Release 1996, 38, 29－37.
5. Ridolfo, A. S.; Kohlstaedt, K. J. A Simplified Method for the Rectal Installation of Theophylline. Am. J. Med. Sci. 1959, 237, 585－589.
6. De Leede, L. G.-J.; De Boer, A. G.; Portzgen, E.; Feijen, J.; Breimer, D. D. Rate-Controlled Rectal Drug Delivery in Man with a Hydrogel Preparation. J. Contr. Rel. 1986, 4, 17－24.
7. Theeuwes, F. Rate Controlled Delivery by the Oral and Rectal Route. Topics in Pharmaceutical Sciences; Breimer, D. D., Speiser, P., Eds.; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1985.

Y

8. Samuels Brusse, F.; Bertens, A. M.; Breimer, D. D. Consumption of Medicines by Outpatients in the Nijmegen Region, 1974—1975. Pharmaceut. Week. 1979, 114, 385—403.
9. Tondury, C. Angewandte und Topographische Anatomie; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1959; 200.
10. De Boer, A. G.; Breimer, D. D. Rectal Absorption: Portal or Systemic. Drug Absorption; Presscott, L. F., Nimmo, W. S. Eds.; ADIS Press: New York, 1979.
11. Caldwell, L.; Nishihata, T.; Rytting, J.; Higuchi, T. Lymphatic Uptake of Water-Soluble Drugs after Rectal Administration. J. Pharm. Pharmacol 1982, 34, 520—522.
12. Sutton, S. C.; Forbes, A. E.; Cargill, R.; Hochman, J. H.; LeCluyse, E. L. Simultaneous In Vitro Measurement of Intestinal Tissue Permeability and Transepithelial Electrical-Resistance (Teer) Using Sweetana Grass Diffusion Cells. Pharm. Res. 1992, 9, 316—319.
13. Saffran, M.; Bedra, C.; Kumar, G. S.; Neckers, D. C. Vasopressin: Model for the Study of Effects of Additives on the Oral and Rectal Administration of Peptide Drugs. J. Pharm. Sci. 1988, 77, 33—38.
14. Moore, J. A.; Pletcher, S. A.; Ross, M. J. Absorption Enhancement of Growth Hormone from the Gastrointestinal Tract of Rats. Int. J. Pharmaceut. 1986, 34, 35—43.
15. Nishihata, T.; Okamura, Y.; Inagaki, H.; Sudho, M.; Kamada, A.; Yagi, T.; Kawamori, R.; Schichiri, M. Trials of Rectal Insulin Suppositories in Healthy Humans. Int. J. Pharmaceut. 1986, 34, 157—161.
16. Davenport, H. W. Physiology of the Digestive Tract: An Introductory Text, 4th Ed.; Year Book Medical Publishers: Chicago, 1982; 229.
17. Fix, J. A.; Porter, P. A.; Leppert, P. S. Involvement of Active Sodium Transport in the Rectal Absorption of Gentamicin Sulfate in the Presence and Absence of Absorption Promoting Adjuvants. J. Pharm. Sci. 1983, 72, 698—700.
18. Fix, J. A.; Alexander, J.; Cortese, M.; Engle, K.; Leppert, P.; Repta, A. J. Short Chain Alkyl Esters of L-Dopa as Prodrugs for Rectal Absorption. Pharm. Res. 1989, 6, 501—505.
19. Fix, J. A.; Engle, K.; Porter, P. A.; Leppert, P. S.; Selk, S. J.; Gardner, C. R.; Alexander, J. Acylcarnitines, Drug Absorption-Enhancing Agents in the Gestrointestinal Tract. Am. J. Physiol 1986, 251, G332—G340.
20. Davis, S. S.; Burnham, W. R.; Wilson, P.; O'Brien, J. Use of Adjuvants for Enhancement of Rectal Absorption of Cefoxitin in Humans. Antimicrob. Agents Chemother. 1985, 28, 211—215.
21. Grass, G. M.; Sweetana, S. A. In Vitro Measurement of Gastrointestinal Tissue Permeability Using a New Diffusion Cell. Pharm. Res. 1988, 5, 372—374.
22. Grass, G. M.; Sweetana, S. A. A Correlation of Permeabilities for Passively Transported Compounds in Monkey and Rabbit Jejunum. Pharm. Res. 1989, 6, 857—861.
23. Gueant, J. L.; Masson, C.; Schohn, H.; Girr, M.; Saunier, M.; Nicholas, J. P. Receptro-Mediated Endocytosis of the Intrinsic-Factor Cobalamin Complex in HT-29, a Human Colon-Carcinoma Cell-Line. FEBS 1992, 297, 229.
24. Rubas, W.; Jezyk, N.; Grass, G. M. Comparison of the Permeability Characteristics of a Human Colonic Epithelial (Caco-2) Cell Line to Colon of Rabbit, Monkey, and Dog Intestine and Human Drug Absorption. Pharm. Res. 1993, 10, 113—118.
25. Anderberg, E. K.; Artursson, P. Epithelial Transport of Drugs in Cell Culture. Part 8. Effect of Sodium Dodecyl on Cell Membrane and Tight Junction Permeability in Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells. J. Pharm. Sci. 1993, 82, 392—398.
26. Ng, K. Y.; Borchardt, R. T. Biotin Transport in a Human Intestinal Epithelial-Cell Line (Caco-2). Life Sci. 1993, 53, 1121—1127.
27. Inui, K. I.; Yamamoto, M.; Saito, H. Transepithelial Transport of Oral Cephalosprins by Monolayers of Intestinal Epithelial-Cell Line Caco-2 Secific Transport-System in Apical and Basolateral Membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1992, 261, 195—201.
28. de Boer, A. G.; Moolenaar, L. G.; de Leede, L. G. J.; Breimer, D. D. Rectal DrugAdministration: Clinical Pharmacokinetic Considerations. Clin. Pharmacokinet 1982, 7, 285—311.
29. Kamiya, A.; Ogata, H.; Fung, H.-L. Rectal Absorption of Nitroglycerin in the Rat: Avoidance of First Pass Metabolism as a Function of Rectal Length Exposure. J. Pharm. Sci. 1982, 71, 621—624.
30. Ritschel, W. A.; Ritschel, G. B. Rectal Route of Peptide and Protein Drug Delivery. Rectal Therapy; Glas, B., de Blaey, C. J., Eds.; J. R. Prous Publishers: Barcelona, 1984; 67.
31. Rytting, J. H. Rectal Route of Peptile and Protein Drug Delivery. Peptide and Protein Drug Delivery; Lee, V. H. L., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1991; 579—593.
32. Voigt, R.; Falk, G. Die Wasserloslichkelt von Arznelmlttein als Kriterlum fü die Arzneistoffliberation aus Fettartigen, Galenischen Grundstoffen (cetyllum phthallcum, LasupolG) unter Berücksichtigung Viskosaltserhöhender

Hilfsstoffe. Pharmazie. 1968, 23, 709—714.

33. Nishihata, T.; Rytting, J. H. Absorption-prompting Adjustments: Enhancing Action on Rectal Absorption. Adv. Drug Delivery Rev. 1997, 28, 205—228.
34. Yoshioka, S.; Caldwell, L.; Higuchi, T. Enhanced Rectal Bioavailability of Polypeptides Using Sodium 5-methoxysalicylate as an Absorption Promoter. J. Pharm. Sci. 1982, 71, 593—594.
35. Fasano, A.; Budillon, G.; Guandalini, S.; Cuomo, R.; Parrilli, G.; Cangiotti, A. M.; Morroni, M.; Rubino, A. Bile-Acids Reversible Effects on Small Intestinal Permeability—An In Vitro Study in the Rabbit. Dig. Dis. Sci. 1990, 35, 801—808.
36. Fix, J. A.; Leppert, P. A.; Porter, P. A.; Alexander, J. Use of Phenothiazines to Enhance the Rectal Absorption of Water Soluble Compound. J. Pharm. Pharmacol 1984, 36, 286—288.
37. Murakami, T.; Yata, N.; Tamauchi, H.; Kamada, A. Studies of Absorption Promotols for Rectal Delivery Preparations II. A Possible Mechanism of Promoting Efficiency of Examine Derivatives in Rectal Absorption. Chem. Pharm. Bull. 1982, 30, 659—665.
38. Tomita, M.; Sawada, T.; Ogawa, T.; Ouchi, H.; Hayashi, M.; Awazu, S. Differences in the Enhancing Effects of Sodium Caprate on Colonic and Jejunal Drug Absorption. Pharm. Res. 1992, 9, 648—653.
39. Nishihata, T.; Tomida, H.; Frederick, G.; Rytting, J. H.; Higuchi, T. Comparison of the Effects of Sodium Salicylate, Disodium Ethylenediaminetetraacetic Acid and Polyoxyethylene 23 Lauryl Ether as Adjuvants for the Rectal Absorption of Sodium Cefoxitin. J. Pharm. Pharmacol 1985, 37, 159—163.
40. Bechgaard, E. Perfusion Technique of the Intact Human Rectum and Absorption of Salicylic Acid from Perfused Human Rectum. Acta Pharmacol. Toxicol. 1973, 33, 123, 129—135.
41. Nishihata, T.; Lee, C.-S.; Rytting, J. H.; Higuchi, T. The Synergistic Effects of Concurrent Administration to Rats of EDTA and Sodium-Salicylate on the Rectal Absorption of Sodium Cefoxitin and the Effects of Inhibitors. J. Pharm. Pharmacol 1987, 39, 180—184.

（罗华菲　宋浩亮　译）

Y

Y

药物输送：注射给药途径

Michael J. Akers

Cook Pharmaceutical Solutions, Bloomington, Indiana, U. S. A.

简介

《美国药典》第 24 版把包装于标示容量不大于 100mL 的容器的注射剂定义为小容量注射剂（SVI）[1]。因此，包装在小瓶、安瓿、注射器、药筒、瓶子以及其他容器中的体积不大于 100mL 的所有无菌产品都属于这一类。尽管包装在可挤压塑料容器中的眼科产品只是局部用于眼睛不是注射给药，但只要容器不大于 100mL 也属于小容量注射剂（参见本书眼用制剂处方及输送部分）。尽管小容量注射剂可以用最终灭菌或无菌过滤等方法进行灭菌，但大容量注射剂（LVI）必须采用最终灭菌。实际上，80%或更多的小容量注射剂是采用无菌操作制备的。大容量注射剂通常包括静脉输液、透析或灌注液，主要是电解质、糖、氨基酸、血液、血制品以及脂肪乳[2]。大容量注射剂必须通过静脉注射给药，小容量注射剂可以通过静脉、皮下、肌肉（主要的注射给药途径）以及其他次要途径给药，如腹腔给药、动脉给药、关节腔给药、心内给药、脑池内给药、皮内给药、眼内给药、胸膜内给药、鞘内给药、宫内给药以及心室内给药。

小容量注射剂相对简单，由活性成分、溶剂系统（优选水）、少量的添加剂（本章后面再详述）、适当的容器以及封盖系统组成。如果活性成分在溶液或混悬液中不稳定，可以通过冷冻干燥法或无菌结晶法将其制成干粉。

这一章主要介绍小容量注射剂的一些基本知识，包括它们的用途、类型、剂型的主要特点、处方组成和包装，其他有用信息参见有关参考书和章节[2-7]。这一章只讲述传统的小容量注射剂，不包括新型的长效制剂。

小容量注射剂的主要用途

小容量注射剂可以是治疗性注射剂、眼科用药、诊断试剂、放射性药物，或者是过敏原浸出物。用于人和动物治疗的活性成分可以是小分子、蛋白质和其他大分子，包括生物制剂、疫苗、单克隆抗体、反义寡核苷酸以及将来的基因。

1. 治疗性注射剂

注射剂包括各种各样的治疗药物，如有用于治疗癌症的、感染的、心血管的、关节炎以及其他炎症疾病的、糖尿病的、激素缺乏症的、中枢神经系统疾病的和许多其他疾病。《美国药典》收载的注射剂品种超过 400 个，由于很多生物技术药物处于临床研究阶段，所以这个数字在今后几年中仍会快速增长。注射剂主要是含有活性成分和附加剂的溶液，可以是即用的（如注射用异戊巴比妥钠），也可以是粉针加水制成的溶液（如健择®），或者是结晶性干粉（包括许多可注射的头孢菌素）。有一些溶液可能只含有一种药物，如复溶的盐酸万古霉素。有的产品是将药物混悬在适当介质中形成混悬液，上市产品中有的是即用型的混悬液（如 Humulin® N），有的是复溶后形成混悬液的（如注射用阿莫西林混悬剂）。此外，上市的注射剂也可以是在给药前需要稀释的浓溶液（如浓氯化钾注射液）。注射剂可以是单剂量或多剂量。多剂量注射剂必须含有抗菌防腐剂，并且体积不得超过 30mL[8]。

2. 眼用制剂[9]

眼用制剂包括溶液剂、混悬剂、凝胶剂、软膏剂以及眼角膜表面局部给药的制剂，也包括大容量注射剂中的灌注液。不同的眼用制剂用于治疗不同的眼部疾病，有青光眼、感染以及炎症等。眼用制剂必须是无菌的，但由于是局部使用所以不需要是无热原的。眼用溶液剂和混悬剂为了使用方便通常将其包装在可挤压的低密度聚乙烯容器中。眼药膏也应该是无菌的且无金属颗粒，它们常用软膏管包装。由于眼用制剂是多剂量产品，因此必须含有抗菌防腐剂。此外，考虑到眼用制剂常用塑料包装，因此大多数产品采用无菌工艺制备。

3. 诊断试剂包括放射性诊断试剂[10]

许多小容量注射诊断试剂是由显影介质和含有碘、铬、锝、铁等放射性元素溶液组成的，这些产品主要用于评价器官的功能。显影介质溶液是稳定的，可以最终灭菌。大多数放射性试剂由于放射性元素的半衰期短，一般在数小时内使用。和其他无菌剂型一样，诊断试剂也是无菌、无热原、无微粒的。

4. 过敏原浸出物[11]

过敏原浸出物是人类异常敏感的过敏原的无菌浓缩液（溶液或混悬液），主要用于治疗和诊断目的。浸出物是水溶液（以 0.9%的氯化钠溶液作为稀释剂）或甘油溶液（以 50%的甘油作为稀释剂）。大多数制剂的 pH 维持在 8，加入苯酚作为抗菌防腐剂（≤0.4%），通常采用无菌过滤除菌。

处方

小容量注射剂通常被认为是将小体积溶液装在小瓶或

安瓿中，但可以使用不同的剂型和包装。

1. 液体

小容量可注射液体主要是水溶液，但是很多重要的治疗药物的水中溶解性差或不溶，因此油溶性溶剂以及水互溶性复合溶剂可作为即用型溶液的溶剂。

1.1 水溶液

水性即用型小容量注射剂含有活性成分和溶剂水，如果需要还有添加剂。水性即用型小容量注射剂的溶剂是注射用水（WFI），它是通过蒸馏或反渗透法制得的。在表1《美国药典》所列的所有水中，注射用水是可用于无菌制剂的最纯净的水。注射用水的关键要求是避免热原的污染，现在注射用水和《美国药典》中其他类型的水要求达到一定的内毒素浓度规范（表1）。内毒素是热原，包括微生物生长的代谢副产物和尸体在内，不能用高压灭菌或无菌膜过滤灭活。水性小容量注射剂溶液可以通过灌装、封口和最终成品灭菌制得，对于不能经受高温或最终灭菌所需辐照剂量的药物也可以采用无菌过滤和无菌分装到最终容器中，再进行无菌封盖。

表1 《美国药典》中所述的几种水

类型	制备	是否无热原	注释
纯化水	蒸馏或离子交换	否	药用溶剂
注射用水	蒸馏或反渗透法	是[1)]	不灭菌，必须在24h内使用或在低于5℃或高于80℃的条件下储存；用于注射产品时必须灭菌
无菌注射用水	蒸馏或反渗透法	是[1)]	和注射用水相同；单剂量包装；用于复溶无菌固体或稀释无菌溶液
抑菌注射用水	蒸馏或反渗透法	是[1)]	多剂量和单剂量
无菌灌洗用水	蒸馏或反渗透法	是[1)]	对于大容量注射剂，1L或更大、广口的不能满足微粒物的要求；标明“专供灌洗”

1) ≤0.25内毒素单位每毫升。

1.2 非水溶液

有些上市的小容量注射剂是油溶液（表2）。出于对安全性、纯度和生物相容性的考虑，作为溶剂的油必须是植物来源的，最常用的是芝麻油、橄榄油和棉籽油。注射用油必须符合《美国药典》的如下要求[12]：

（1）固态石蜡试验（测量油的澄明度）；

（2）皂化值在185～200；

（3）碘值在79～128；

（4）测定不皂化物和游离脂肪酸。

油溶液是由分别灭菌的溶剂和药物经无菌混合制得的，溶剂常用干热灭菌，药物则用干热灭菌或气体灭菌（如环氧乙烷）。由于在破坏微生物所需的压力下，产品中缺少产生饱和蒸气所必需的水汽，油溶液不能采用最终灭菌法。Sims和Worthington[13]以及Radd[14]等已经报道了油溶性注射液的实际开发经验。

表2 小容量注射剂产品中有关油性溶剂系统[4]

产品，USP XXII	油	产品，USP XXII	油
氨苄青霉素（混悬液）	菜子油	乙酸去氧皮质酮	芝麻油
己烯雌酚	芝麻油，棉籽油	二巯基丙醇（混悬液）	花生油
肾上腺素（混悬液）	芝麻油	苯甲酸雌二醇	芝麻油
环戊丙酸雌二醇	棉籽油	戊酸雌二醇	芝麻油
雌酮	芝麻油	乙碘	罂粟籽油
氟奋乃静庚酸酯	芝麻油	羟孕酮己酸酯	芝麻油
甲萘氢醌	芝麻油	癸酸南诺龙	芝麻油
普鲁卡因青霉素G（混悬液）	菜子油	丙碘酮（混悬液）	花生油
环戊丙酸睾酮	棉籽油	庚酸睾酮	芝麻油
丙酸睾酮	芝麻油		

1.3 助溶剂

很多小容量注射剂中含有助溶剂，表3中列举了部分上市产品。

表3 含有助溶剂的小容量注射剂

商品名	生产厂家	助溶剂
Dramamine	Searle	50%丙二醇
Apresoline	Ciba	10%丙二醇
MVI	US Vitamins	30%丙二醇
Nembutal	Abbott	40%丙二醇，10%乙醇
Luminal	Winthrop	67.8%丙二醇
Dilantin	Parke-Davis	40%丙二醇，10%乙醇
DHE 45	Sandoz	15%丙三醇，6.1%乙醇
Cedilanid	Sandoz	15%丙三醇，9.8%乙醇
Robaxim	Robbins	50%聚乙二醇
Serpasil	Ciba	50%聚乙二醇，10%二甲胺
Ativan	Wyeth	20%聚乙二醇，80%丙二醇
Librium	Roche	20%丙二醇
Valium	Roche	40%丙二醇，10%乙醇
Lanoxin	Burroughs Wellcome	40%丙二醇，10%乙醇

摘自：Yalkowsky，S.；Roseman，T. Techniques of Solubilization of Drugs；Marcel Dekker，Inc.：New York，1981：91。

助溶剂用于增加难溶性药物在水中的溶解度。很明显，由于降低了体系中水的百分含量，助溶剂往往可以尽可能降低甚至阻止药物通过水解发生降解。与水混溶的助溶剂是通过降低水的介电常数，从而增加水难溶性药物在水中的溶解度。根据药物的稳定性，含有助溶剂的产品可以采用热压法进行最终灭菌。此外，这样的产品也可以采用无菌操作制得。在注射剂处方中，使用助溶剂最值得关注的是当静脉注射时有造成红细胞溶血的可能[15]。因此，对于注射剂处方中加入的任何助溶剂都必须考查其安全性和潜在的毒性。

2. 固体

小容量注射剂可以是无菌固体用稀释剂复溶后形成的溶液或混悬液，常用的稀释剂是《美国药典》中的无菌注射用水。无菌、干的小容量注射剂主要采用以下两种方法制得。

2.1 冷冻干燥

大多数上市的无菌粉末都是通过冷冻干燥的方法制得的，通常我们也称冷冻干燥为冻干。在冻干过程中，产品在严格无菌条件下以溶液进行无菌过滤和灌装。有特殊沟槽的橡胶塞部分地插入瓶中，然后置于冷冻干燥机中。冷冻干燥包括如下三步主要操作：

- 在产品的低共熔温度下（对结晶性原料而言）或玻璃化转变温度下（对无定形原料而言）冷冻；
- 第一次干燥是冻结的溶剂升华，发生固态直接变为气态的相变；
- 第二次干燥是去除和溶质结合的水分，使水分低至有利于产品长期稳定。

在冷冻干燥过程完成后，部分嵌入的橡胶塞就完全被压入瓶中，成品是白色或类白色无菌干燥粉末。

由于某些药物在溶液中不够稳定，则采用冷冻干燥操作。大多数治疗用蛋白质在溶液中不稳定，只有制成冻干产品才能上市。冷冻干燥处方常含有填充剂（如甘露醇），它可以使干燥的固体制品外观完整且有助于稳定药物。冻干制剂中所加的其他辅料主要是为了使产品的物理和（或）化学稳定，如像缓冲剂、抗氧剂和保护剂。除了一些需要冷藏或保质期比较短的蛋白质制品，通常装于小瓶中的冷冻干燥产品室温保存至少两年。一旦冻干产品复溶后在室温条件下可储存 24h，在冰箱储存条件下则可长达一周。此外，可以参考一些有关冻干科技方面的经典论著[16,17]。

2.2 粉末直接填充的小容量注射剂

有许多小容量抗生素注射剂和其他一些药物的注射剂是通过无菌结晶或无菌粉末直接分装制得的，最常见的是头孢菌素。无菌药物溶液可以将药物用适当的溶剂溶解后，用 0.2μm 的滤膜进行过滤。无菌结晶技术包括加无菌晶种、调节 pH 和加药物不溶的无菌反溶剂。反应生料倒在滤器上（如布氏漏斗）干燥，然后将干燥的结晶粉碎混合。显然药物必须是可以结晶的。在影响最终药物结晶纯度和质量的因素中，温度、溶剂加入速度、pH 的调节、混合速度和时间以及晶种的品质是很关键的。采用无菌结晶后再粉末分装工艺比冷冻干燥要经济得多，但是无菌粉末分装有许多问题需要解决，有工艺的可变性、微生物和颗粒的污染以及操作者的灵敏度。

3. 混悬剂[18]

对于无菌混悬剂，活性药物在给药前是混悬在液体中的。上市的混悬剂有两种：一种是即用型的；另一种是干粉复溶后形成混悬液。将药物制成混悬剂有以下两个原因：一个是药物水溶性差但不需要静脉给药；另一个是长效储库型注射剂。

混悬注射剂是由无菌赋形剂和无菌药物粉末合并后制得，或者是由两种无菌溶液合并后由于药液在稀溶液中析出而制得。混悬注射剂产品介绍见表 4。

表 4 小体积混悬型注射剂

产品	生产商	混悬剂
Aristocort	Lederle	丙二醇 4000
Bicillin C-R	Wyeth	卵磷脂，羧甲基纤维素
Decadron-LA	Merck	羧甲基纤维素
Depo-medrol	Upjohn	PEG 3350
Duracillin	Lilly	普鲁卡因盐
Hydeltra-TBA	Merck	特布他特盐
Lente insulins	Lilly，Novo	多晶型的
NPH insulins	Lilly，Novo	精蛋白
PZI insulins	Lilly，Novo	精蛋白，锌
Prolixin decanoate	Princeton	癸酸盐

制作混悬剂主要需要注意以下几点：①药物在混悬液中的再混悬性，以使产品均匀地装填在容器中且当从容器中抽取时保证剂量均一；②药物的结块或沉淀，以导致产品物理性质不稳定；③通针性（指从瓶中吸取一均匀剂量到注射器中的能力）和注射性（指产品从注射器通过针头注入患者体内的能力）。

混悬注射剂处方中包含混悬剂、润湿剂（若混悬剂不具有润湿作用）、缓冲剂以及防腐剂（对于多剂量产品而言）。

4. 乳剂[19]

乳剂是油水基质和适当的表面活性剂混合而成的混合物，表面活性剂能促进和维持油水两相一定的混合性。丙泊酚（Diprivan®、propofol、局麻药）是小容量乳剂型注射剂的一个主要例子。其处方中含有大豆油、甘油和卵磷脂。

小容量注射剂的基本特征

小容量注射剂必须是无菌、无热原和无外原性微粒。这三个主要特征区分了无菌制剂和其他制剂。

1. 无菌[20]

无菌是指绝对不受微生物污染的状态。有趣的是，无菌产品标签上的“无菌”一词有历史意义，意味着一批产品中的样品通过了官方的无菌检测[21]。现在，若要宣布产品无菌，仅仅做无菌检测是不够的。为了达到无菌目标，多项措施必须组合协同起来发挥作用，如所有装置、设备的清洁；设备、包材以及所有和无菌产品接触的东西的清洗灭菌；层流区的安装和验证，无菌空气通过高效空气过滤器被送到层流区；为了严格控制微生物和微粒，要对设备、装置、水和人进行环境监测；对人员进行无菌技术的培训；无菌工序的验证；过滤系统的验证；过滤系统在过滤前、后完整性测试；对容器的密封系统进行完整性测试以保证产品的无菌；最初对所有批次的产品进行无菌检测，并在稳定性试验中对快过保质期的某批产品进行无菌检测。

作为产品无菌的独立指标，最终产物的无菌测试至少受三个方面的局限，这些局限降低了测试的可靠性：①通常每批 20 个包装的少量样品代表了整个一批产品。概率统计表明，这样小的样本容量污染程度至少达到 1%时才会不能通过无菌测试。②用于无菌检测的培养基能否支持可能染菌的产品中微生物生长。③在无菌检测过程中没有提出偶然污染。人员、测试环境和测试材料等有限的可能性都会引入污染，进而导致假阳性的无菌测试结果。由于屏蔽隔离技术系统的出现和成功应用，人们已经弱化了对这一点的关注。这样的系统避免了任何无菌样品的直接接触，并且提供了绝对无菌的测试环境。

2. 无热原

热原是微生物的代谢产物，一定量的热原注入任何人和哺乳动物体内后和人脑的下丘脑作用，会引起体温升高。此外，它们还能引起其他生理不良反应，甚至致死。内毒素是主要的一种热原，大量的内毒素可导致严重的脓毒症。热原是体积非常小，能溶于水并耐热的脂多糖，它一般不能被湿热灭菌所破坏，也不能通过 0.2μm 滤膜过滤去除。对于热原的去除关键是预防热原污染而不是消除热原。注射剂中的热原污染主要是来源于水，但是热原经蒸馏后可被破坏。用于清洗容器和盖子的水都可能带入热原，但玻璃瓶经高温干热可灭菌（通常高于 250℃即可破坏热原）。橡胶塞可经蒸汽灭菌，但不能破坏热原。塞子可采用无热原的水进行洗涤和冲洗的方法除掉热原。用于注射剂的化学原料必须用无热原的水或其他溶剂结晶。由于存在内毒素，有些像蔗糖、甘露醇、氨基酸等原料现在必须进行入库质量控制。如果注射剂成品受到热原污染，那么将没有有效的方法可以去除或破坏热原。超滤（纳米过滤）可以除去热原，用于生物工艺中则可以从治疗用的蛋白质中分离脂多糖的最小单位，但对于注射剂产品的生产，超滤不是一种实用的去除热原的方法。

有两种试验可以检测是否有热原污染。一种比较老的方法是给兔子注射样品，测量其直肠温度。至于温度升高多少是允许的已有法定限度，根据这个可以判定产品是否受到热原污染。另外一种比较新的方法相对简单，这种体外热原试验法称为鲎试验法（limulus amebocyte lysate，LAL），其原理是利用马蹄蟹（鲎）的变形细胞对源于革兰氏阴性菌的内毒素脂多糖成分的高敏感性。目前，对于大多数小容量注射剂的内毒素限度检查《美国药典》选用鲎试验法[22]。

3. 无颗粒物

在注射溶液中不允许有颗粒。虽然存在一定量的不可见颗粒，但是现在《美国药典》已经规定了小容量注射剂允许的不可见微粒限度，即每个包装中大于等于 0.5μm 的颗粒不超过 6000 个，大于等于 25μm 的颗粒不超过 600 个。《美国药典》是世界上唯一规定小容量注射剂中不可见微粒限度的标准，对于大容量注射剂各国都有不可见微粒限度（每毫升微粒数）的标准。含有可见颗粒的小容量注射剂是不能使用的。颗粒可引起产品质量和临床应用中的安全问题，主要是由于容器、瓶塞和人员引入的。

4. 稳定性

小容量注射剂中的药物通常不稳定，许多药物不能制成即用型溶液上市，即使药物在溶液中比较稳定，仍需要注意制剂处方、包装、存储条件，以保证在存储和使用期间其性能稳定。药物降解的主要途径包括氧化（由高温、高 pH、重金属、光以及过氧化物等多种因素催化和分子氧反应）和水解（由高温和极端 pH 催化的与水的反应）。对于蛋白质制剂，蛋白质聚集导致的活性下降可能是蛋白质降解的主要途径。药物也可能与包装材料和处方成分发生作用导致物理和化学的降解。

氧化包括自由基与分子氧的反应，容易形成自由基的官能团，如酚基和巯基、催化剂和分子氧一起可以引起自身氧化增长过程。许多小容量注射剂采用避光包装，要求存储在可控的室温或低温环境中，在处方中维持低的 pH，加入抗氧剂和（或）金属离子络合剂，并在无氧环境下操作，水用惰性气体饱和，在密闭容器前用惰性气体充填、赶出容器中的氧气。

液体小容量注射剂中有许多药物会和水发生反应生成水解产物。由于溶液的 pH 可能会发生变化，在氢离子或氢氧根离子的催化下，药物的水解和分解也会随之发生。在某些注射剂中缓冲剂起着很重要的作用，它可以严格控制溶液的 pH。固体注射剂的水解是源于容器中含有水分、固体中残留水分，或者是从橡胶塞中渗透进去的水分。因此，在生产过程中控制水分以及使用透水差的包装材料对避免干粉发生水解破坏是非常重要的。

Y

5. 等张性

小容量注射剂必须和血液、泪液、脊髓液以及与注射液接触的生物体液等张，也就是说，所注射溶液中溶质的质点数和生物细胞中所含质点数要相同。等张意味着细胞的正常伸缩性不受水分进出细胞的影响，当溶液低渗时水分进入细胞；当溶液高渗时水分则从细胞中进入溶液中。通过测量溶液依数性可以确定溶液的等张性，常用渗透压法和冰点下降法来测定溶液依数性。生物细胞是半透膜，允许水分子通过（像硼酸这样的一些溶质也可以通过），但大多数溶质是不可以通过的。如果低渗溶液注入体内，细胞内溶质质点比溶液中的多，为了平衡细胞膜两侧的渗透压，溶液中的水就会通过细胞膜进入细胞内。随着细胞内水分的增加可能会导致细胞破裂，红细胞的破裂成为溶血。高渗溶液则可产生相反的作用，为了平衡细胞膜两边的渗透压，细胞内的水分渗透到细胞外，细胞发生皱缩。在这两种情况下，因细胞损伤可能会出现疼痛和组织刺激或组织损伤。红细胞、肌肉细胞和皮下细胞能承受较宽的渗透压范围（250～350 mOsm/kg），而泪腺细胞和脊髓液细胞对渗透压的轻微变化比较敏感。实际上，除了用于脑脊液的注射剂外（鞘内注射剂、脊柱内注射剂、脑池内注射剂），小容量注射剂的摩尔渗透浓度允许范围较宽，但对于所有注射剂都应该做到等张是注射剂处方研究者的共同目标。

处方成分

和其他剂型相比，小容量注射剂的处方相对简单。溶液型小容量注射剂含有水、活性成分和少量非活性添加剂。固体型小容量注射剂含有活性成分和一到两种添加剂。出于对产品安全的考虑，应该严格控制和筛选所添加成分的数量和种类。

1. 溶剂

注射用水是小容量注射剂最常用的溶剂。作为溶剂，注射用水被用于配制大批溶液以及设备和包材的最终冲洗。尽管《美国药典》规定的灭菌注射用水只可以用蒸馏法制得，但注射用水可以用蒸馏法或反渗透法制得。用高压灭菌制得的无菌注射用水是无菌固体注射剂的复溶溶剂。抑菌注射用水是多剂量使用的固体注射剂的复溶溶剂。苯甲醇是抑菌注射用水中常用的抗菌防腐剂。

芝麻油、棉籽油和其他植物油是水不溶性药物的溶剂，如皮质类固醇类和脂溶性维生素。油性溶液只能进行肌内注射。

2. 增溶剂

增溶剂是用来增加水难溶性药物溶解度的[23~27]。以下是增溶剂在无菌产品中的应用实例：①液体助溶剂，甘油、聚乙二醇（300、400、3350）、丙二醇、乙醇、聚氧乙烯蓖麻油（Cremophor EL）、山梨醇；②表面活性剂，聚山梨酯-80、聚山梨酯20、普朗尼克68、卵磷脂；③配位剂，β-环糊精、Captisol®（磺丁基环糊精）、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素钠。

液体增溶剂是通过降低溶剂系统的介电常数来起作用，从而降低溶剂的导电能力，增加脂溶性药物或非极性药物的溶解度。在上市的无菌溶液型注射剂 Lanoxin®、Valium®和 Nembutal®中含有增溶剂。常用的复合溶剂由40%丙二醇和10%乙醇的水溶液组成。

因为表面活性剂具有独特的化学性质，在同一个分子中既含有亲水基团又含有亲脂基团（β-环糊精也同样如此），因而表面活性剂能增加难溶性药物的分散性和水中溶解度。亲脂性基团被吸附到药物分子表面，而亲水性基团和水性溶剂分子相互作用。因此，药物分子被包在表面活性剂的亲脂性核中（有时称其为胶束），而表面活性剂的极性分子则暴露在水中，这样药物就被表面活性剂增溶而溶于水中，有时这被称为胶束。

像β-环糊精这样的固体增溶剂是靠在水溶液中和药物包合形成水溶性包合物起增溶作用的。正如表面活性剂一样，β-环糊精也是两亲性的，它内部是亲脂性基团，外部是亲水性基团，这使得不溶性药物可位于β-环糊精的内部，从而实现不溶性药物在水中的溶解。Brewster 等[28]对环糊精在注射剂处方中的应用进行了论述，特别阐述了环糊精在增溶和稳定蛋白质多肽中的应用。最近出现了一种安全有效的环糊精增溶剂和稳定剂——Captisol®[29]，它是一种带有磺丁基醚取代基的阴离子β-环糊精。

3. 抗菌防腐剂

抗菌防腐剂可保持产品在存储和使用过程中处于无菌状态。在多剂量注射剂中，由于多次从同一个容器取用过程中有染菌的可能，因此需要加抗菌防腐剂。尽管对在某些单剂量用无菌操作法生产的注射剂中加抗菌防腐剂有争议，但在处方中仍加抗菌防腐剂以保证产品无菌。对于不能最终灭菌的产品，加抗菌防腐剂以及采用低于110℃热处理都可以进一步保证产品无菌。可用的抗菌防腐剂很少（表5），而且还在不断减少，像硫柳汞（其他含汞防腐剂）和三氯叔丁醇已不再使用。大多具有抗菌活性的物质在较低浓度时就有刺激性和毒性，通常稳定性差，可通过水解或氧化发生降解，并且和药物及辅料会不相容，与包装材料可能有不良的相互作用。醇类和酚类化合物是常用的注射抗菌防腐剂，它们在较低浓度时就有较高的毒性且容易被氧化；此外，它们的挥发性会造成橡胶塞不密封。进行处方研究时要注意《美国药典》和《欧洲药典》对防腐剂的防腐效力要求是不同的，《美国药典》的要求是抑菌防腐剂，而《欧洲药典》则要求杀菌防腐剂。例如，《欧洲药典》标准A规定，将细菌污染物加到含杀菌防腐剂的产品中一天后细菌污染程度下降3-log，而《美国药典》则规定7天后下降1-log。

表 5 小容量注射剂中的抗菌防腐剂

品名	浓度范围/%	产品
苯酚	0.065～0.5	胰岛素（Humulin N），雷尼替丁（Zantac），依酚氯铵（Tensilon），西咪替丁（Tagamet），非那根（Phenergan），葡聚糖铁（Imferon）
甲酚	0.16～0.3	胰岛素（Humulin N），胰岛素（Humulin R），生长激素（Humatrope），哌替啶（Demerol）
尼泊金甲酯	0.05～0.18	地塞米松（Decadron），阿米替林（Elavil），新斯的明（Prostigmin）
尼泊金丙酯	0.011～0.035	庆大霉素（Garamycin），氟奋乃静（Prolixin），苄星青霉素（Bicillin）
三氯丁醇	0.5～0.55	Epitrate，Bentyl，多沙普仑（Dopram）
苯甲醇	0.75～2.0	地西泮（Valium），促生长素（Protropin），治平霉素（Geopen），丙氯拉嗪（Compazine），普鲁卡因胺（Pronestyl），克林霉素（Cleocin）
苯扎氯铵	0.01～0.025	大多数眼用制剂
硫柳汞	0.0075～0.01	短杆菌肽（Neosporin），人免疫球蛋白（Rhogam），透明质酸酶（Wydase）

4. 缓冲剂

缓冲剂可以维持溶液的 pH 在一定范围内，这样可以最大限度地避免药物因水解而发生降解，使药物在溶液中有最佳的稳定性。小容量注射剂中最常用的缓冲体系见表 6 所列。缓冲剂是由简单弱酸和其相应盐组成的。缓冲剂的选择是根据药物在溶液中所需最稳定或最佳溶解度的 pH 决定的，pH 要和缓冲剂的 pK_a（解离常数）相匹配。例如，pH4.5 是最适酸碱度，那么乙酸缓冲盐是比较合适的，因为乙酸的 pK_a 是 4.76。在 pH4.76 时乙酸中有 50%以酸的形式存在（不解离），剩余的则解离形成盐。溶液中存在足量的酸和盐可抵消任何可能的 pH 漂移，以维持所需的溶液 pH。缓冲剂的浓度是根据在一定范围内维持所需 pH 时缓冲容量的大小来决定的。很明显，浓度越高，缓冲容量越大，但是浓度高可能会出现其他问题，如常见的药物酸碱催化水解。

表 6 小容量注射剂中常用缓冲体系

pH	缓冲体系	浓度/%
3.5～5.7	乙酸-乙酸盐	1～2
2.5～6.0	柠檬酸-柠檬酸盐	1～5
6.0～8.2	磷酸-磷酸盐	0.8～2
8.2～10.2	谷氨酸-谷氨酸盐	1～2

5. 抗氧剂[30]

抗氧剂是通过优先和分子氧反应而起作用的，可以最大限度地降低或终止游离自由基的自动氧化反应。许多药物对氧气敏感，在没有抗氧剂保护的情况下，药物会快速降解。除了使用抗氧剂，还要采取其他预防措施，包括避光、隔热、避免重金属和过氧化物的污染以及避免长期暴露在空气中。如果产品在低 pH 稳定且可溶，那么最好选用低 pH 的处方。表 7 列出了常用的抗氧剂，其中应用最广泛的是亚硫酸氢钠，因为它的氧化还原电位决定其氧化反应速度，其他的亚硫酸盐也是有效的抗氧剂。同样，维生素 C 和抗坏血酸盐也是如此。有时，多种抗氧剂联合使用或抗氧剂和螯合剂合用可以强化对易氧化药物的保护，注射剂中最常用的螯合剂是依地酸二钠（DSEDTA）。

表 7 小容量注射剂中常用抗氧剂

抗氧剂	浓度范围/%
水溶性的	
亚硫酸盐	
亚硫酸氢钠	0.05～1.0
亚硫酸钠	0.01～0.2
焦亚硫酸钠	0.025～0.1
硫代硫酸钠	0.1～0.5
甲醛合次硫酸氢钠	0.005～0.15
抗坏血酸异构体	
L-抗坏血酸和 D-抗坏血酸	0.02～1.0
硫醇衍生物	
乙酰半胱氨酸	0.1～0.5
半胱氨酸	0.1～0.5
巯基甘油	0.1～0.5
巯基乙酸	
巯基丙酸	
硫脲	0.001～0.05
二硫苏糖醇	
谷胱甘肽	
油溶性的	
没食子酸丙酯	0.05～0.1
叔丁基对羟基茴香醚	0.005～0.02
二丁甲苯酚	0.005～0.02
棕榈酸抗坏血酸酯	0.01～0.02
去甲二氢愈创木酸	0.01～0.05
α-生育酚 9	0.05～0.075

6. 蛋白稳定剂

近年来涌现出很多治疗用多肽和蛋白质，最近至少有 30 个蛋白质产品上市，数百个蛋白质产品处于临床研究阶段。蛋白质很容易和外界发生反应，这样就引起蛋白质的

Y

降解。在各种药物剂型中，蛋白质可能很容易和水、处方成分、包材成分以及空气发生反应。高温、pH 变化、光、氧气、湿气和机械力等环境因素可促使蛋白质降解。降解反应有物理和化学两种，物理稳定性常比化学稳定性更引人关注。在某些条件下，尤其是极端温度和过多机械操作处理条件下，蛋白质容易聚集。在冷冻和（或）干燥过程中以及冻干的蛋白质在储存过程中可能会出现变性，这种变性使蛋白质以聚集体的形式存在。有许多成分可以使蛋白质在溶液中和干粉中保持稳定[31~34]。血清白蛋白可以和治疗用蛋白质竞争玻璃和其他表面的结合位点，以减少蛋白质因表面结合而造成的损失。考虑到像白蛋白这样的天然物质有病毒污染的可能，人们正在研究其他的竞争性结合物（如羟乙基淀粉）。为了在冷冻干燥过程中尽量减少蛋白质的变性，许多不同类型的物质可用作冷冻保护剂和冻干保护剂，主要有氨基酸（甘氨酸、赖氨酸、谷氨酰胺）、多羟基醇（山梨醇、甘油、聚乙二醇）、非还原糖（蔗糖、海藻糖）和聚合物（如聚乙烯吡咯烷酮、甲基纤维素和右旋糖酐）。表面活性剂聚山梨酯-80、聚山梨酯-20 和普罗沙姆 188（普朗尼克 68）广泛用于保护蛋白质，以降低蛋白质在气/水和水/固界面上的聚集。必要时，缓冲剂、抗氧剂以及螯合剂都可用于稳定溶液中的蛋白质。

7. 张力调节剂

在灭菌产品中用于调节张力的物质很多。例如，氯化钠或其他钠盐是最常用的电解质，最常用的非电解质，如甘油和乳糖。张力调节剂一般是最后加到处方中，等加入其他成分并测量出处方的摩尔渗透压浓度后才加张力调节剂。如果处方为低张（即用渗透压仪测得渗透压小于 280mOsm/kg），则需要加张力调节剂使处方至等张；如果处方为高张，则需要考虑高张的程度以及给药途径。对于静脉给药，高至大约 360mOsm/kg 的高张值可以认为是无害的，但对于其他给药途径则必须尽量做到等张。如果可行的话，可以通过减少处方组分的浓度或临用前将产品进行稀释的方法来实现。

8. 其他成分

在冷冻干燥周期的升华过程后，为了增加容器中所形成的“塞状物”的固含量，在冻干制剂中要使用填充剂。它不仅能使产品的外观更好看，而且能作为稳定剂在有效期内吸收过量的水分。混悬剂使药物在振摇后能混悬在溶剂中，并在吸取混悬的药物时能保证剂量均匀。乳化剂降低了油水界面的表面张力，使不混溶的两种溶剂混合并形成稳定的乳剂。半固体状物有利于药物在眼膏剂中的分散，也可作为软膏剂的基质。下面是这些不同辅料的具体实例。

（1）填充剂：甘露醇、乳糖、蔗糖、右旋糖酐。

（2）混悬剂：羧甲基纤维素、甲基纤维素、凝胶、山梨醇。

（3）乳化剂：卵磷脂、聚山梨酯-80。

（4）眼膏剂基质：凡士林。

有两本综合性的参考书可供剂型设计人员参考，在书中罗列了一部分上市的灭菌制剂中所用辅料的类型和用量[34,35]。

包装

包装显然是构成注射剂所不可缺少的一个部分，它对注射剂可以起到一个长期保护的作用，以保持产品的理化性质稳定。包装也可以作为药物输送的工具，使给药更加方便（如注射器、双室小瓶）、给药剂量更易控制（如储药盒）。颗粒污染的主要来源是包装，包装会引起产品的物理化学降解。包装材料中的成分会溶解到产品中，产品也会吸附到包装材料上。包装材料的主要种类有玻璃、橡胶和塑料，这里不阐述眼膏剂所用的金属管。小容量注射剂的包装主要是玻璃密闭安瓿、橡胶塞密封的小瓶、预填充注射器、储药盒以及玻璃或塑料制的小容量或大容量瓶子。

1. 玻璃[36]

注射剂用的玻璃被分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ三类（表 8）。Ⅰ类是品质最高的，几乎全由硼硅酸盐组成（二氧化硅），能抵抗强酸、强碱的腐蚀。Ⅰ类玻璃虽然比较昂贵，但人们仍喜欢用Ⅰ类玻璃来生产大多数注射剂。即便是Ⅰ类玻璃，也常要用硫酸铵或二氧化硅来处理以除去表面的渗出物。Ⅱ类玻璃是由钠钙玻璃组成，它们必须经亚硫酸钠或硫化钠中和表面碱性氧化物。Ⅲ类玻璃是由未经处理的钠钙玻璃组成。Ⅱ类玻璃可用于大容量注射剂和溶液 pH 低于 7.0 的小容量产品。Ⅲ类玻璃只能用于油性溶液和干粉。美国药典和其他药典为了评价不同类型的玻璃有一定的要求和必要的检测[37]。

表 8 用于小容量注射剂的玻璃

类型	概述	USP 测试	尺寸/mL	限度（消耗 0.02mol/L 酸的体积）/mL
Ⅰ	高度惰性、硼硅酸盐玻璃	玻璃粉碎	所有的	1.0
Ⅱ	经处理的钠钙玻璃	耐水	100 及以下 100 以上	0.07 0.2
Ⅲ	钠钙玻璃	玻璃粉碎	所有的	8.5
NP[1)]	常用的钠钙玻璃	玻璃粉碎	所有的	15.0

1）用于非注射产品。

制剂开发人员要注意，玻璃可能会渗出多种元素，如硼、钠、钾、钙、铁和镁，玻璃渗出物可能会对溶液的 pH 有影响，如果药物或处方中其他成分和这些渗出物作用形成不溶性盐就会产生沉淀。由于会产生碱性渗出物，高 pH 的溶液应避免使用。为了控制渗出物可能引起的问题，必须始终对每批玻璃的质量进行控制。由于玻璃内表面的脱

片现象，玻璃颗粒也可能是一个会影响质量的问题。

棕色玻璃容器用于对光敏感的小容量注射剂，之所以是棕色是由于在玻璃配方中添加了铁和锰的氧化物。氧化物的渗出可能催化氧化反应。

2. 橡胶[38]

橡胶可作为橡胶塞（小瓶、储药盒）、橡胶活塞（注射器、储药筒）以及其他一些用途（双室小瓶的橡胶隔膜，注射器管中引针的橡胶垫），其配方可能很复杂，不仅有橡胶聚合物本身，还含有许多添加剂，如增塑剂、填充剂、硫化剂、色素、活化剂、促进剂和抗氧剂。这些添加剂中许多成分和纯度不明，可能会造成注射剂产品的物理和化学降解。制剂研究者要像和玻璃生产商沟通一样紧密地与橡胶生产商联系，选择适合的橡胶配方使其具有一致的特性，以保证产品的稳定性。

天然橡胶和丁基橡胶是小容量注射剂中最常用的橡胶（表 9）。硅氧烷橡胶和氯丁二烯橡胶也可以用，但在灭菌产品中用得较少。丁基橡胶比天然橡胶要好，丁基橡胶用的添加剂较少，对水蒸气的透过性较差，而且在和活性成分的反应以及对气体（如氧气）的透过性方面具有良好的特性。

表 9 小容量注射剂中能经热压灭菌的橡胶

类型	添加剂	水气渗透	和产品可能的反应性
丁基橡胶	中等	低	中等
天然橡胶	高	中等	高
氯丁二烯橡胶	高	中等	高
聚异戊二烯	高	中等	中等
硅氧烷橡胶	中等	很高	低

橡胶材料主要存在的问题是橡胶内的组分（如锌）会渗出进入产品中，吸附产品中的活性成分或抗菌防腐剂。针头反复穿刺会使橡胶剥落，脱落的橡胶颗粒会影响产品质量甚至是产品的安全性。

在灌装线上为了便于橡胶塞在不锈钢设备上的传送，通常将橡胶塞进行硅烷化处理，但是硅氧烷橡胶和疏水性药物不相容。橡胶上过多的聚硅氧烷会加快蛋白质的聚集并会和某些药物产生沉淀。人造橡胶生产商已经开发了具有特殊结合涂层的橡胶，这种橡胶有光滑的表面，不需要用聚硅氧烷即可进行生产，适用于高速的生产设备。

3. 塑料

对于眼用制剂塑料包装很重要，对于注射剂塑料包装正在普及。用塑料瓶可以使人们将药物溶液的小滴滴入眼内。大容量注射剂用塑料瓶进行包装已有很多年了，而小容量注射剂用塑料瓶包装可能是将来的发展趋势。用塑料包装有很多优点，可以节约成本，不会有像玻璃瓶破损那样的问题出现，使用更方便。和其他包装一样，塑料也会和产品发生相互作用，出现物理和化学方面的稳定性问题。塑料配方比橡胶配方要简单，有渗出物渗出的可能性较小，但是众所周知，聚合物中有增塑剂渗出，如用于大输液袋和给药装置的聚氯乙烯容器。最常用的眼用产品的塑料聚合物是低密度聚乙烯，对于其他小容量注射剂的塑料包装，聚烯烃应用广泛，还有聚氯乙烯、聚丙烯、聚酰胺（尼龙）、聚碳酸酯以及乙烯乙酸乙烯共聚物。

储存

小容量注射剂的恰当储存对于活性成分的安全性和活性是很关键的。长期稳定性研究对选择适当的储存条件是必要的，稳定性研究包括产品在不同温度、光照、不同相对湿度条件下的储存以及评估在运输和处理过程中机械外力对稳定性的影响。处在现在这个药品全球配送的时代，对适当的储存条件和处理进行研究是很重要的，尤其是对那些含有对温度和外力敏感的生物分子的产品。在配送和储存过程中，除了关注药物的物理化学稳定性外还要关注包装密封系统，看它是否足以保持产品的无菌以及其他微生物学的品质。最近几年，因为管理部门（如 FDA）要求在药品注册申请时和稳定性研究的常规操作中要有包装密封整体性研究资料，所以这项研究显得越来越重要。有一些关于包装密封整体性研究方法的好文献可供参考[39,40]。

参 考 文 献

1. United States Pharmacopeia, National Formulary, 24th Ed, 19th Ed.; The United States Pharmacopoeial Convention, Inc.: Rockville MD, 2000; 1775.
2. Turco, S. Sterile Dosage Forms, 4th Ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1994.
3. Avis, K. E. Sterile Products. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed.; Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1986; 639－677.
4. DeLuca, P. P.; Boylan, J. C. Formulation of Small Volume Parenterals. Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 1, 173－248.
5. Boylan, J. C.; Fites, A. L.; Nail, S. L. Parenteral Products. Modern Pharmaceutics, 3rd Ed.; Banker, G. S., Rhodes, C. T., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
6. Avis, K. E. Parenteral Preparations. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed.; Gennaro, A. R., Ed.; Mack Publishing Company: Easton, PA, 1990; 1545－1569.
7. Harwood, R. J.; Portnoff, J. B.; Sunbery, E. W. The Processing of Small Volume Parenterals and Related Sterile Products. Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A.,

Y

Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 2, 1—92.

8. United States Pharmacopoeia, National Formulary; 24th Ed., 19th Ed.; The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1777.
9. Hecht, G.; Roehrs, R. R.; Cooper, E. R.; Hiddemen, J. W.; Van Duzee, B. F. Design and Evaluation of Ophthalmic Pharmaceutical Products. Modern Pharmaceutics, 2nd Ed.; Banker, G. S., Rhodes, C. T., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 539—603.
10. Olsen, L. E. Sterile Diagnostics. Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 2, 321—359.
11. Shough, H. R. Allergenic Extracts. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed.; Gennaro, A. R., Ed.; Mack Publishing Company: Easton, PA, 1990; 1405—1415.
12. United States Pharmacopoeia, National Formulary, 24th Ed., 19th Ed.; The United States Pharmacopoeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1776.
13. Sims, E. E.; Worthington, H. E. C. Formulation Studies on Certain Oily Injection Products. Int. J. Pharm. 1985, 24, 287—296.
14. Radd, B. L.; Newman, A. C.; Fegeley, B. J.; Chrzanowski, F.; Lichten, J. L.; Walking, W. J. Development of Haloperidol in Oil Injection Formulations. J. Parenteral Sci. Technol. 1985, 39, 48—53.
15. Reed, R. W.; Yalkowsky, S. H. Lysis of Human Red Blood Cells in the Presence of Various Cosolvents. J. Parenteral Sci. Technol. 1985, 39, 64—68.
16. Pikal, M. J. Freeze Drying. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 6, 275—303.
17. Nail, S. L.; Gatlin, L. A. Freeze Drying: Principles and Practices. Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, 2nd Ed.; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 2, 163—223.
18. Akers, M. J.; Fites, A. L.; Robison, R. L. Formulation Development of Parenteral Suspensions. J. Parenteral Sci. Technol. 1987, 41, 88—96.
19. Floyd, A. G.; Jain, S. Injectable Emulsions and Suspensions. Pharmaceutical Dosage Forms: Dispersed Systems, 2nd Ed.; Lieberman, H. A., Rieger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 2.
20. Akers, M. J. Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate, and Package Integrity Testing, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994.
21. United States Pharmacopeia, National Formulary 24th Ed., 19th Ed.; The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1818—1823.
22. United States Pharmacopeia, National Formulary 24th Ed., 19th Ed.; The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1829—1931.
23. Gibson, M.; Denham, A. J.; Taylor, P. M.; Payne, N. I. Development of a Parenteral Formulation of Trimelamol, A Synthetic S-Triazine Carbinolamine-Containing Cytotoxic Agent. J. Parenteral Sci. Technol. 1990, 44, 306—313.
24. Chien, Y. W. Solubilization of Metronidazole by Water-Miscible Multi-Cosolvents and Water-Soluble Vitamins. J. Parenteral Sci. Technol. 1984, 38, 32—36.
25. Howard, J. R.; Gould, P. L. The Use of Cosolvents in Parenteral Formulations of Low Solubility Drugs. Int. J. Pharm. 1985, 25, 359—362.
26. Tarr, B. D.; Yalkowsky, S. H. A New Parenteral Vehicle for the Administration of Some Poorly Water Soluble Anti-Cancer Drugs. J. Parenteral Sci. Technol. 1987, 41, 31—33.
27. Rajagopalan, N.; Dicken, C. M.; Ravin, L. J.; Sternson, L. A. A Study of the Solubility of Amphotericin B in Nonaqueous Solvent Systems. J. Parenteral Sci. Technol. 1988, 42, 97—102.
28. Loftsson, T.; Brewster, M. E. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. I. Drug Solubilization and Stabilization. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 1017—1025.
29. Thompson, D. Cyclodextrins—Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals, CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, January, 1977.
30. Johnson, D. M.; Gu, L. C. Autoxidation and Antioxidants. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; 1, 415—449.
31. Wang, Y. J., Pearlman, R., Eds.; Stability and Characterization of Protein and Peptide Drugs; Plenum Publishing Corp.: New York, 1993.
32. Ahern, T. J., Manning, M. C., Eds.; Stability of Protein Pharmaceuticals; Plenum Publishing Corp.: New York, 1992.
33. Carpenter, J. F.; Pikal, M. J.; Chang, B. S.; Randolph, T. W. Rational Design of Stable Lyophilized Protein Formulations: Some Practice Advice. Pharmaceutical Research 1997, 14, 969—975.
34. Nema, S.; Washkuhn, R. J.; Brendel, R. J. Excipients and their Use in Injectable Products. PDA J Pharm. Sci. Technol. 1997, 51, 166—171.

35. Powell, M. F.; Nguyen, T.; Baloian, L. Compendium of Excipients for Parenteral Formulations. PDA J Pharm. Sci. Technol. 1998, 52, 238—311.
36. Glass as a Packaging Material for Pharmaceuticals. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Abendroth, R. P., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 7, 79—99.
37. United States Pharmacopoeia, National Formulary 24th Ed., 19th Ed.; The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000; 1930—1932.
38. Avis, K. E.; Smith, E. J. Elastomeric Parenteral Closures. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 7, 73—88.
39. Guazzo, D. M. Container/Closure Integrity. Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate, and Package Integrity Testing, 2nd Ed.; Akers, M. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; Chapter 4.
40. Pharmaceutical Package Integrity. Technical Report No. 27. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1998, 52.

（栾瀚森 译）

Y

药物输送中的黏膜黏附水凝胶

Hans E. Junginger
Maya Thanou
J. Coos Verhoef
Leiden/Amsterdam Center for Drug Research, Leiden University, The Netherlands

引言

本章重点讲述基于水凝胶的生物黏附给药系统并输送至覆盖有黏液的生物表面的原理。回顾了过去几十年关于黏膜黏附的发现以及黏膜黏附水凝胶作为药物载体的应用，同时回顾了经常用于研究水凝胶、黏液以及下层黏膜之间黏附力和理化作用的技术，给出了黏膜黏附性水凝胶黏膜给药途径的典型例子。最后，本章讨论了这些聚合物在药物输送中的应用前景。

非侵入性给药需要将给药系统（DDS）输送至上皮，该部位为活性化合物吸收的适宜位点，这些区域通常称为黏膜。人体中可以确定一些黏膜位点，如治疗药物最常用的给药和吸收途径为胃肠道。为了增加药物在这些吸收位点的滞留时间，使用一种所谓的黏膜黏附的给药系统。通常，这些系统包含一种或多种类型的水凝胶。

准确地说，黏膜黏附水凝胶是一类聚合生物材料，具有水凝胶的基本性质，吸水发生膨胀，通过与覆盖上皮的黏液的黏着而相互作用。

生物黏附（bioadhesion）定义为合成或生物大分子与生物组织的附着[1]。黏膜黏附（mucoadhesion）是生物黏附的特殊情况，此时生物组织是黏液覆盖的上皮。在胃肠道、呼吸道以及泌尿生殖道，黏液是一种薄膜样的物质，覆盖着与胃肠道、呼吸道和泌尿道外环境保持着联系的所有上皮。黏液的功能主要是保护和润滑下层的上皮，但由于覆盖着的上皮类型不同，可能还有其他的功能。在这些黏膜途径中，每种黏液的特性（如厚度）和功能是不同的。准确地说，用于药物传递的黏膜途径有：

- 口腔/口服途径；
- 鼻途径；
- 眼部途径；
- 阴道途径；
- 胃肠道途径。

早在 20 世纪 80 年代，在控释给药系统领域便引入了黏膜黏附给药的概念[2,3]。此后，一些研究人员便集中研究黏膜黏附水凝胶（和其他类型的黏膜黏附性化合物）与黏液之间的界面现象，并评价了一些体内及体外研究这种相互作用的技术。Harding 等[4]最近综述了这些技术，且在表 1 中列出。

表 1 研究黏膜黏附的方法[4]

方法	注释
直接测定	
张力测量法	测定脱离两个表面所需的力：一个表面覆盖有黏膜，另一个表面是含有黏膜黏附水凝胶的固体剂型
流量测定法	测定脱离两个表面所需流动速率 $d\upsilon/dt$，适用于微粒制剂
胶体金染色	测量“黏附数”
体内技术	内窥镜检查，γ 闪烁扫描法
分子黏蛋白的测定	
黏度和流变学测定	特性黏度 $[\eta]$ 通过 MHKS[1]，α 系数与复合物分子大小有关
动态光散射	散射系数 D 通过 MHKS，c 系数与复合物分子大小有关
浊度，光散射	SEC MALLS[2]尤其用于测定黏蛋白相对分子质量、浊度及作为半定量指示剂
分析的超速离心法	相对分子质量（沉降平衡）的变化，复合物对黏蛋白的沉降系数比
表面胞质基因组共振成像方法	需要流动相和固定相，原子力显微镜检查法（常规和金标记），扫描隧道显微镜法

1）Mark-Houwink-Kuhn-Sakurada。
2）大小排阻色谱仪多角激光散射。

黏膜黏性水凝胶作为一种给药系统，应：

- 可充分装载活性化合物；
- 不与活性化合物发生物理化学作用，或者不产生导致活性化合物灭活和降解的负面环境；
- 在输送-吸收位点的水性生物环境中膨胀；
- 与黏液或其组分相互作用而产生足够的黏附力；
- 当膨胀时，控制活性化合物的释放；
- 与下层的上皮要有生物相容性，而完全没有细胞毒性、纤毛毒性或者不引起细胞膜成分不可逆转的改变；
- 有适宜的分子大小和构象，以避免给药部位的全身吸收；
- 以原形被排出或生物降解为无活性、无毒、可进一步被机体清除的低聚物或者单体。

此外，设计用于活性化合物控制释放的黏膜黏附输送

系统应该能定位于给药和吸收的特定位点，尽量延长活性化合物在给药位点的滞留时间，如果允许，应该是一天一次的剂量。

设计用于大分子物质如多肽或蛋白质等药物给药的黏膜黏附输送系统，应该具有通过改变下层上皮渗透性而使渗透性增强的特性，以及具有通过抑制给药位点的蛋白水解酶或通过保持适宜的 pH 以稳定给药系统的内在环境，而达到保护肽类药物以免被降解的特性。

黏膜黏附聚合物的固体剂型主要用于药物的口腔给药，然而微米或纳米粒级的制剂首选用于鼻腔和肠道中的给药[5]。

在过去十年里，黏膜黏附剂型的研究尤其集中在胃肠道系统，该给药途径对患者的依从性和给药的便利性是最适合的。由于这个原因，由黏膜黏附水凝胶组成的微粒剂用不同的技术进行了设计和评价[6,7]。然而，固体制剂更适于人体内小的腔道的使用，如口腔，或者用于化合物的全身吸收，或者用于局部的炎症治疗。在这种情况下，评价了由黏膜黏性水凝胶制成的单个单元的制剂（片剂）[8]。眼和阴道也用黏膜黏性水凝胶（用于局部或全身吸收）进行了研究。

几种类型的水凝胶的黏附特性已经确定，两种类型的聚合物引起了特别的关注：以聚丙烯酸酯及其交联的修饰物为代表的阴离子型；以壳聚糖及其衍生物为代表的阳离子型。另外，两种聚合物均显示了很多适用于更广范围的药物的有趣特性。

特殊类型的黏膜黏附水凝胶，如凝集素，已用来解决传统水凝胶出现的困难，如在胃肠道。因为这些化合物不属于水凝胶类，在这里不做过多论述。

黏液

在高等生物体中，上皮覆盖着一层保护性的称为黏液的凝胶层。从质量看，黏液主要由水（95%～99.5%）组成，其中分散着黏膜糖蛋白黏液素（0.5%～5%），黏液素是组成凝胶状黏液结构的主要成分，它们具有线性蛋白结构，寡糖侧链被高度糖基化。蛋白质的核心是由一条多肽链构成，每 3 个残基中就有一个是 L-丝氨酸或 L-苏氨酸，其中 O-3 原子提供糖苷化连接的位点，典型的黏液糖蛋白大约由 80%的碳水化合物组成，对于人体这些碳水化合物局限于以下五种单糖：

- L-岩藻糖；
- *N*-乙酰氨基葡萄糖；
- D-半乳糖；
- *N*-乙酰半乳糖胺；
- 唾液酸；

• 唾液酸残基通常位于糖链末端，而硫酸酯片段位于更内部的位置，两者都能使分子产生净负电荷，黏液糖蛋白分子质量为 0.5×10^6～1.6×10^6 Da[4]。

黏液素可被分为两类：膜结合型和分泌型。膜结合型的黏液素附着于细胞表面，可影响免疫反应或炎症。有报道显示，高表达的细胞表面黏液素，如唾液黏蛋白 MUC1，可以导致细胞-细胞和细胞-基质之间的相互作用[10]。分泌型的黏蛋白由黏膜中有吸收能力的细胞和特异的杯状细胞排出。在胃肠道、眼、呼吸道、泌尿生殖道的上皮细胞中，它们是黏膜凝胶的主要组成部分。该类黏液凝胶层的主要功能是作为一种物理屏障和润滑剂。黏液中的重要组成物包括生长因子和三叶形肽，两者均由位于临近溃疡黏膜组织的专门细胞所分泌，这是一种适应的现象，在保持黏膜组织的屏障功能、增强细胞迁移和损伤后治愈方面非常重要。黏液中的其他物质包括分泌免疫球蛋白 A（IgA）、溶菌酶、乳铁蛋白、α_1-抗胰蛋白酶、盐类和 *N*-糖基化糖蛋白[10]。

目前确认了 9 种不同的人体上皮黏蛋白基因，每种基因包含独特的序列，这种序列在编码（apo）黏蛋白核心多肽（MUC）前后不断重复[10]。

Leung 和 Robinson[11] 详细阐述了与黏膜黏附相关的黏液层的 4 种特性：

（1）黏液是线性、柔韧、任意盘绕的大分子网状结构；

（2）由于唾液酸和硫酸盐残基的存在，黏蛋白带负电荷；

（3）黏液是交联的网状结构，通过黏液素分子间的二硫键连接；

（4）黏蛋白是高度水化的。

一些技术已用来评估黏液分泌速率，但是其准确性仍值得商榷。然而，已有结论显示，胃肠道中杯状细胞的胞外分泌能维持其黏液的缓慢基础分泌。这些都是在胆碱能的控制下进行的[12]。Rubinstein 和 Tirosh 用不同剂量的卡巴可（胆碱能激动剂）在胃肠道的不同部分增大了黏液厚度[13]。

也有人试图估计黏液凝胶的更新速率。Lehr 等[14] 等采用大鼠在体肠循环灌注模型研究单位时间内黏液产生的数量，他们发现更新速率在 0.8～4.5h 变动。

黏膜黏附的机制和原理

水凝胶和黏膜之间黏附的机理过程可用以下三个步骤进行阐述：

（1）聚合物湿润和膨胀后与生物组织紧密接触；

（2）生物黏附聚合物链相互渗透，聚合体和黏蛋白链交织在一起；

（3）在相互交织的链上形成弱的化学键（图 1）。

人们现已提出几种理论来解释这种生物黏膜黏附现象[15～17]。

电子理论是基于假设黏膜黏附水凝胶与靶向生物组织具有不同的电子结构。当两种材料互相接触时，发生了电子转移，在生物黏附物-生物组织界面形成双电子层。双电子层的吸引力形成了生物黏附力。

吸附理论认为在黏附性底物和组织或黏膜之间形成的

Y

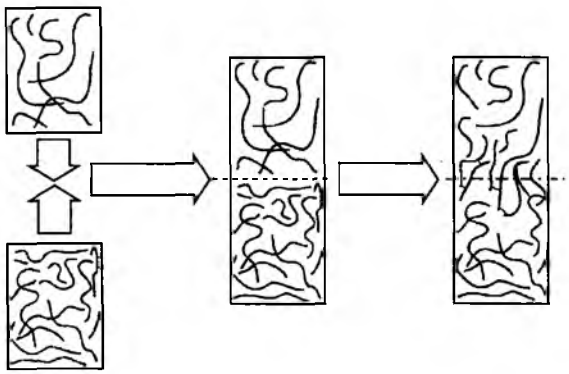


图 1 根据相互渗透理论黏膜黏附性聚合物与黏液素糖蛋白相互作用的三个阶段

生物黏附连接是由于 van der Waals、氢键和相关力的存在。当黏液或唾液和固体制剂接触时，液体分子被吸附在固体表面，这是一个发热的过程。吸附自由能由式（1）计算：

$$\Delta G_{AD} = \Delta H_{AD} - T\Delta S_{AD} \quad (1)$$

式中：ΔH_{AD}和 ΔS_{AD}分别表示焓和熵的变化值，当吸附自然发生时，ΔG_{AD}是负值。

固体与液体的接触角 θ 反映其润湿能力。如果 $\theta=0$，液体可以自由铺展于固体表面，并湿润它。固体与液体的接触角和存在液体饱和水蒸气时的表面张力之间的关系用 Young 方程表示：

$$\gamma_{sv} = \gamma_{sl} + \gamma_{lv}\cos\theta \quad (2)$$

式中：γ_{sv}表示固体/水蒸气表面张力；γ_{sl}表示固体/液体表面张力；γ_{lv}表示液体/水蒸气表面张力。

界面张力 γ_{sl}与单个液体和固体表面张力的关系还可用 Good 方程表示：

$$\gamma_{sl} = \gamma_{sv} + \gamma_{lv} - 2\Phi(\gamma_{sv}\gamma_{lv})^{1/2} \quad (3)$$

式（3）表示由于液固之间分子相互吸引而引起界面张力的下降。符号 Φ 定义为

$$\Phi = W_a/(W_{cl}W_{cs})^{1/2} \quad (4)$$

式中：W_{cl}和 W_{cs}分别为液体和固体凝聚功；W_a 为黏附功。

扩散理论认为聚合物链的相互渗透和缠绕也导致生物黏附。两个底物间的紧密接触对扩散的发生是很重要的，也就是说，界面扩散的驱动力取决于界面两侧的浓度梯度。聚合物链渗透入黏液网中依靠浓度梯度和扩散系数，反之亦然。对于一个有效的黏附，聚合物的相互渗透应该在 0.2～0.5μm。渗透的深度（l）可以用式（5）计算：

$$l = (tD_b)^{1/2} \quad (5)$$

式中：t 表示接触时间；D_b 表示生物黏附材料在黏液中的扩散系数。

断裂理论是研究黏膜黏附机制时最广泛应用的理论，该理论阐明黏附后分离两界面所需要的力。分离时产生的最大张力（σ）可用式（6）计算，用分离的最大张力 F_m 除以发生黏附作用的整个表面积 A_0：

$$\sigma = F_m/A_0 \quad (6)$$

按照 Duchéne 和 Ponchel[17]的理论，当采用张力测定法测量最大拆分力时，这种拆分力是上部支撑物位移的函数（连接处延长的功能），生物黏附功可以定义为

$$W_b = F \times l \quad (7)$$

此外，零延长率的断裂能可定义为生物黏附功和初始表面的比值，这种初始表面积是生物材料（以片或板形式出现）和生物支撑物之间的面积 A_0。断裂能 ε 的计算式为

$$\varepsilon = W_b/A_0 \quad (8)$$

从热力学角度看，断裂能是可逆功（W_r 代表界面上分子间可逆的相互作用）和不可逆功（W_i 代表界面连接的不可逆功）的总和。W_r 和 W_i 都可以用单位面积的断裂能来表达：

$$\varepsilon = W_r + W_i \quad (9)$$

当采用低的延伸率进行测量时（如 1mm/min），W_i 可忽略不计，零级延伸率的断裂能等于生物黏附的可逆功 W_r，用式（10）表示：

$$\varepsilon_0 = W_r = W_b/A_0 \quad (10)$$

断裂理论并未考虑生物学的现象，如组织运动引起的压力产生等。

水凝胶的黏膜黏附性研究

过去的十年间，人们有几种方法来研究水凝胶的黏膜黏附现象或黏膜黏附性质（表 1）。据报道，20 世纪 80 年代末，张力测量法被认为是最适宜的方法，并且至今仍广泛地应用于研究水凝胶的黏膜黏附。Peppas 和他的同事们开发了一种用于测量含聚丙烯酸的片剂与牛黏膜之间生物黏附力的张力技术[16,18]。图 2 中显示了一种用于测定固体张力的装置，这套装置可以较好地模拟生物体内的环境，实验在水性环境下完成，黏膜来自于新鲜的生物组织。推荐这套装置更适用于口腔或阴道黏膜制剂的研究，在研究中，生物液是可控制的。张力测定法在比较不同水凝胶的黏附性质方面是非常实用的[19]。

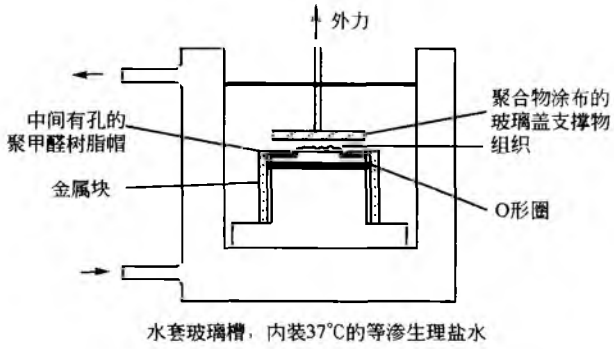


图 2 测定黏膜黏附性聚合物膜从黏膜组织中分离所需的力的实验装置

Mikos 和 Peppas[20]介绍了采用流动管道法测定黏集素

凝胶上聚合物微粒的生物黏附性。后来 Lehr 等[21]采用在体大鼠循环模型研究了黏膜黏附微球（图 3）。他们得出结论，这种方法可用于微粒转运的研究。另一种研究微球黏膜黏附性质的技术是电平衡方法，Chickering 等[22,23]已有描述。环境条件，如温度和 pH，是易于控制的，且从一次实验中可获得几个参数，作者提出用于进行研究的生物溶蚀材料的黏膜黏附不能归因于链的相互缠绕，而是亲水性基团（—COOH）和黏液糖蛋白之间的氢键结合。

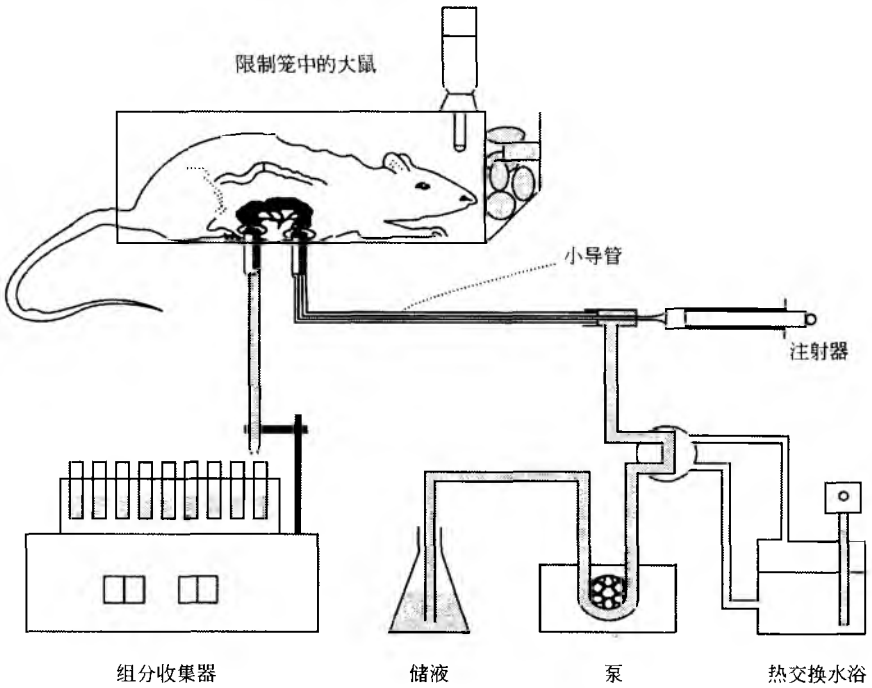


图 3 研究黏膜黏附性微球在长时间离体循环中的小肠转运的实验装置

Park[24]引入胶体金染色技术用于研究黏附数，条带状的聚合物与胶体金-黏集素结合物一同培养，清水漂洗后测量条带的吸光率。胶体金染色技术已经用于研究黏集素-壳聚糖之间的相互作用[25]。

Mortazavi 等[26,27]使用流变学测量技术研究不同 pH 下黏液-卡泊姆 934P 间的相互作用以及黏膜黏附中水流动的作用。同样的流变学技术也用于研究四种不同类型的聚合物，研究结果表明对于生物黏附，分子之间的相互渗透是重要的因素，能够加固生物黏附材料-黏膜界面的黏附[28]。流变学方法还用来研究离子敏感性的聚合物（卡泊姆和脱乙酰基结冷胶 Gerlite），和两种商品化的黏蛋白（颌下腺黏蛋白和牛胃黏蛋白）之间的相互渗透[29]。聚合物-黏蛋白混合物弹性系数的增加（与单独的聚合物弹性系数相比）显示了黏膜黏附良好的相互作用。然而，聚合物的浓度、黏蛋白类型和离子数对黏蛋白-离子敏感性聚合物之间的相互作用有显著影响，这些都显示用相互渗透解释黏膜黏附应该只适用于聚合物和黏蛋白之间黏附的特殊事例。

Rossi 等[30]用聚丙烯酸和羧甲基纤维素钠对不同来源黏蛋白的流变学进行了评价。他们还报道了一种基于静态黏弹性测试（Creep test）的新流变学方法来描述黏性聚合物和黏蛋白间的相互作用[31,32]。Jabbari 等[33]使用衰减全反射红外光谱法研究聚丙烯酸在黏蛋白界面的链式相互渗透。

其他用于研究聚合物和黏液之间分子相互作用的技术包括超速离心法、表面胞质基因共振法和电磁传导法[4,34]。Illum 和他的同事[35]用浊度测量法研究了壳聚糖微球之间的相互作用以及黏蛋白对微球的吸附。

显微技术也被用来研究黏液-聚合物的相互作用[36~39]。Fiebrig 等[36]使用透射电子显微镜，而 Lehr 等[37]使用了不同的显微技术观察黏附界面。透射电子显微镜与近场 Fourier 红外光谱仪（FTIR）联用适于研究加入到水凝胶中的聚乙二醇的黏附促进作用[38]。此外，扫描力显微镜可以获得有关黏膜黏附和特殊黏附现象的信息[39]。

药物输送的黏膜途径

1. 口腔途径

口腔途径是黏膜黏附给药系统中最广泛使用的方法。不论是局部的炎症治疗（如口疮）。还是药物的快速吸收（硝酸甘油）。制剂技术应用口腔给药已经有 20 多年了，舌下和牙龈制剂已经在市场有销售（表 2）。

Y

表 2 使用黏膜黏附聚合物制备的用于口腔和舌下给药的药品[8]

药物	治疗范围	产品名称
硝酸甘油	心绞痛	Suscard, Cardilate, Nitrobid, Nitromex, Nitrong
单硝酸异山梨酯	心绞痛	Imdur, Isordil, ISMO
丁丙诺啡	止痛	Temgesic, Buprenex
烟碱	戒烟	Nicotinelle, Nicorette
麦角胺	偏头痛	Ergostat, Ergomar
甲基睾丸素	性功能障碍，青春期延长	Oroton Methyl, Testred, Virilon
劳拉西泮	焦虑，失眠	Ativan

口腔黏膜由多层细胞组成，根据在口腔中不同区域功能不同而分化为各种类型[40]。口腔黏膜覆盖着复层鳞状上皮细胞，分为三种不同类型的黏膜：咀嚼黏膜、内层黏膜和特异性黏膜。血液通过颈外动脉供应口腔组织，其分支传递到上颌舌动脉和面动脉。口腔黏膜中没有分泌黏液的杯状细胞，但是在人类唾液中可以发现黏蛋白。这些黏蛋白是水溶性的，并且形成了厚度为 10～200μm 的凝胶。唾液，主要由 99%的水构成，在口腔中不断地分泌，形成了厚度为 0.07～0.1mm 的一层薄膜[40]。

在 20 世纪 80 年代，Machida 和 Nagai[41]评价了用羟丙基纤维素（HPC）制成的倍氯松喷雾剂用于治疗反复发作的口疮。在此之前，一种 HPC 和卡泊姆 934P 的双层片已经上市用于治疗口疮[41]。

Bouckaert 等[42]试验使用改性淀粉-聚丙烯酸混合物制备咪康唑的口腔片。尽管这些片剂在体外显示不同的黏膜黏附性质，但是在志愿受试者中观察到唾液中咪康唑含量没有显著性差异。

Lee 和 Chien[43]评价了双层的黏膜黏附制剂，由聚乙烯吡咯烷酮（PVP）的速释层和包含有卡泊姆 934P、聚乙烯吡咯烷酮的缓释层构成，延长促黄体生长激素释放激素（LHRH）在猪的齿龈和牙槽黏膜释放达 24h。该装置还含有吸收促进剂（胆酸钠）和西吡氯铵以防止 LHRH 被微生物降解。通过增加速释层中 LHRH 或者吸收促进剂的用量可使 LHRH 的渗透增加。这种制剂的设计可以改进以使肽类药物的黏膜渗透达到指定的速率。

Nair 和 Chien[44]比较了不同聚合物（羧甲基纤维素钠、卡泊姆、聚乙烯氧化物、聚甲基乙烯基醚-马来酐、黄芪胶）制成的贴剂和片剂对四种药物（洗必泰、克霉唑、苯佐卡因、氢化可的松）的释放特性的影响。他们观察到四种化合物都可以从黏膜黏附片中持续地释放，但是仅有 2 种原药洗必泰和克霉唑可以按照可控的方式从黏附贴剂中释放。

口腔双层制剂（膜剂和片剂）由含药的黏附层和不含药的背衬层所组成[45]。前者含壳聚糖，游离或与阴离子聚合物（卡泊姆、藻酸钠、结冷胶）交联，后者含乙基纤维素。通过卡泊姆与壳聚糖原位交联形成片剂，这种片剂显示可控的溶胀和药物释放，在牛舌下黏膜有足够的黏附力。

口腔中牙周袋是药物输送的另一个位点，Needleman 等[46]在体外用器官培养的方法以及在患者的牙周和口腔黏膜上研究了 3 种黏膜黏附聚合物（阳离子壳聚糖、阴离子黄原胶、中性聚乙烯氧化物）。在所研究的聚合物中，壳聚糖在体外显示最长的黏附时间，但在口腔黏膜却显示最短的黏附。

2. 鼻腔途径

对于那些不易吸收的化合物如肽类或蛋白质类药物，鼻腔给药是最适宜的给药方式。鼻腔上皮细胞具有相对高的通透性，在固有层，仅有两层细胞将鼻腔与密集的血管网分离。呼吸道上皮细胞是人体鼻腔的主要内层，在黏膜纤毛系统的黏液消除作用中发挥重要作用。这种上皮细胞由有纤毛和无纤毛的柱状细胞、杯状细胞和基层细胞组成。呼吸道上皮细胞覆盖一层黏液，可分为两个独立层（外周纤毛层和凝胶状的上层）。外周纤毛层由低黏度的液体构成。黏液由杯状细胞分泌，以胞外分泌形式分泌高度浓缩的颗粒。黏液层通过纤毛的推进到达鼻咽。黏膜纤毛的消除功能是移走鼻腔中的外来物质和颗粒，防止它们进入上气道[47]。

采用大鼠实验研究了各种不同结构的黏附聚合物延缓鼻黏纤毛清除的能力[48]。甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素、谷氨酸壳聚糖、卡泊姆 934P、聚乙烯氧化物 600K 以及普流罗尼 F127 以凝胶形式使用，处方中加入荧光标记物的微球以检测其清除能力。研究发现，每种聚合物凝胶的清除率都比相对照的微球体混悬液低，使凝胶制剂在鼻腔中的滞留时间延长。甲基纤维素（3%）凝胶有最长的鼻腔滞留时间，然而卡泊姆 934P（0.2%）水凝胶效果最差。

Illum 等[49]采用大鼠及羊模型研究了用作给药平台的壳聚糖溶液制成的胰岛素鼻腔给药制剂。他们报道了在所有的浓度中，存在浓度依赖的吸收增加作用，同时病理学改变最小。

Oechslein 等[50]采用大鼠模型研究了各种黏膜黏附聚合物的粉末制剂促进奥曲肽鼻腔吸收问题。尽管壳聚糖显示出最高的吸水量（壳聚糖＞微晶纤维素＞半微晶纤维素≫果胶＝羟基淀粉＝海藻酸＝葡聚糖凝胶 G25），将海藻酸和葡聚糖凝胶 G25（分别为 4.1%和 5.56%）一同给药后，肽类药物达到了最高的生物利用度。作者得出结论：聚合物的钙结合性质与提高奥曲肽的生物利用度有更好的相关性。

Nakamura 等[51]研究了水溶性和中性聚合物、羟基纤维素（HPC）、黄原胶（XG）、罗望子胶（TG）和聚乙烯醇（PVA）在体外和体内对鼻黏膜的吸附。带有染料的聚合物以粉末形式注入兔鼻腔内，用细纤维镜检查在鼻腔停

留 2h、4h、6h 后残留的染料量。聚合物 XG 显示了染料在鼻腔内停留时间最长，接下来依次递减的是 TG、HPC 和 PYA。对于混有 XG 和 XG-PVA（2∶8）的制剂，染料残余物在给药 6h 后仍可检测到。在体外琼脂培养基中，这些聚合物的黏附次序与体内一致。Illum 等[52]介绍了用于难吸收药物鼻腔给药的生物黏附微球。由二乙基氨基乙基（DEAE）-右旋糖酐、淀粉微球和白蛋白微球制成的有放射性元素标记的微球给予志愿者使用，与溶液或非黏附粉末剂型相比，其消除速度明显减慢。然而淀粉或透明质酸微球显著增强肽类在鼻黏膜的吸收[53]。

Nakamura 等[54]描述了布地奈德的微粒剂型，含有新的生物黏附材料和 pH 依赖的由聚甲丙烯酸和聚乙二醇组成的接枝共聚物，兔鼻腔给药后可以提高和保持恒定的血浆水平达 8h。

近来，用 γ 闪烁扫描的方法测试了淀粉、壳聚糖微球及壳聚糖溶液在志愿者体内的消除特性[55]。结果显示壳聚糖微球、淀粉微球、壳聚糖溶液（图 4）消除半衰期分别延长 4 倍、3 倍、2 倍（与对照组比较）。这些观测结果支持这样一种假说，即壳聚糖给药系统可降低鼻腔消除率，因而增加给药系统与鼻黏膜的接触时间，从而增大了制剂中药物的生物利用度。

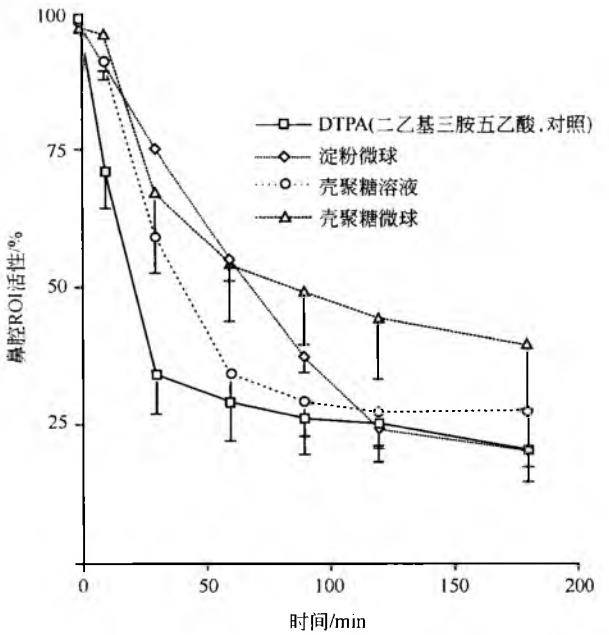


图 4　志愿者对生物黏附制剂和对照品的鼻腔清除[55]

3. 眼部途径

眼部途径主要用于眼部疾病的局部治疗。传统滴眼剂药物吸收的生物利用度较低（2%～10%）。这是由于有限的吸收面积，角膜上皮的亲脂特性，以及一系列减少角膜表面与药物接触时间的消除因素，例如，滴眼液的流出、流泪、泪液冲洗和泪液蒸发[56]。

眼用剂型遇到的第一个结构是角膜前的泪膜，包含三层，即外层、油层和脂质层，主要防止眼泪蒸发。中层，为盐的水溶液层。内层是由结膜杯状细胞和泪腺分泌的黏液层。该层对润湿角膜和结膜上皮非常重要。眼部的膜包括角膜（没有血管）和结膜（有血管）。角膜上皮由 5～6 层非角质化鳞状细胞构成，认为是眼部药物渗透的主要途径[57]。

以下几种类型的黏膜黏附制剂已经用于眼部给药的评价：水凝胶、黏性液体、固体（植入剂）和颗粒制剂[57]。Hui 和 Robinson[58]用家兔研究了眼用黄体酮水凝胶，这种水凝胶由交联聚丙烯酸组成。这些制剂使黄体酮在水性体液中的浓度比水性混悬液中增大了 4 倍。

Davies 等[59]用家兔泪囊造影技术比较了卡泊姆 934P 和同样黏性的非黏膜黏附的 PVA 溶液以及磷酸盐缓冲液（PBS）的前角膜清除率。卡泊姆 934P 的前角膜滞留时间明显比 PVA 延长，而 PVA 的前角膜滞留时间明显比 PBS 长。在同样的研究中，与 PVA 和 PBS 相比，卡泊姆 943P 溶液可明显增大毛果芸香碱的生物利用度。该作者描述了用卡泊姆 934P 或卡泊姆 1342（一种修饰过的疏水树脂）包衣的磷脂囊[60]。在 pH5 时，与非包衣囊相比，包有黏附性聚合物的磷脂囊能明显增加前角膜的滞留。然而，与非包衣囊和水溶液相比，聚合物包衣囊并未增大滞留的托吡卡胺经眼给药的生物利用度。

Lehr 等[61]在兔眼上涂药的方法研究了两种卡泊姆（中性与非中性的）庆大霉素制剂，两种聚合物制剂通过结膜球部都摄取了 2 倍量的庆大霉素。

Saettone 等[62]研究了作为环戊通和毛果芸香碱潜在生物黏附载体的低黏性聚合物（多聚半乳糖醛酸、透明质酸、羧甲基直链淀粉、羧甲基几丁质、硫酸软骨素、硫酸肝素以及中聚糖）在兔眼上的缩瞳作用。观察到不高但显著增加的生物利用度，也观察到了两种药物生物利用度和聚合物黏附强度的相关性。

Calvo 等[63]研究了壳聚糖和聚-L-色氨酸（PLL）包衣的聚-ε-己内酯（PECL）毫微囊在眼部给药的应用。与滴眼剂相比，这种系统（非包衣、PLL-包衣和壳聚糖包衣的毫微囊）显著增加消炎痛在兔眼角膜和房水中的浓度。在眼部，壳聚糖包衣的消炎痛的生物利用度是非包衣颗粒的 2 倍，而 PLL 包衣则无效。作者得出结论：不是表面的阳性电荷，而是壳聚糖的特殊性质增加了消炎痛摄取。PLL 和壳聚糖包衣的毫微囊都有较好眼耐受性[63]。

Chetoni 等[64]采用新方法研究土霉素圆柱形制剂的眼用植入剂。这种制剂由硅橡胶制成，植入剂的表面接上由聚丙烯酸或聚甲基丙烯酸组成的相互渗透的生物黏附聚合物网。测试植入剂在兔眼中药物释放和滞留，结果显示部分植入剂可以使土霉素在泪液中浓度维持 36h。

4. 阴道途径

阴道途径被认为适于局部治疗，也可用于激素替代疗法或避孕（如雌激素）。阴道也适用于肽类药物（如 LHRH 和降钙素）的全身吸收[65]。

阴道为药物吸收提供了充分的区域，因为上皮的许多皱褶增大了总表面积。在阴道周围存在丰富的血管网，而阴道上皮主要由子宫颈黏液和阴道壁分泌的液体构成的一薄层水分所覆盖。

传统阴道给药系统包括片剂、泡沫凝胶、混浮液、阴道栓剂。据报道基于卡泊姆的黏膜黏附凝胶制剂可在阴道组织中保留 3～4 天，为黄体酮和壬苯聚醇-9 的给药提供了很好的载体[66]。

透明质酸的苯基酯（HYAFF 11）是一种高黏膜黏附聚合物，可制备成微球。含有降钙素的微球制剂给予大鼠阴道给药，用以防止卵巢切除后骨质疏松[65]。最近的研究表明，将 HYAFF 11 降钙素微球制成单剂量阴道栓剂，可保持持续的降钙素血浆浓度[67]。

5. 胃肠道途径

经口途径是最方便的给药途径，有很高的患者依从性。黏膜上皮沿胃肠道而变化。胃表面上皮由单层柱状细胞构成，这层细胞顶端膜覆盖有一层明显的多糖蛋白复合物。一层厚黏液覆盖表面以防止腔内物质侵蚀。由于低 pH 和蛋白水解酶的存在，这个位置药物输送可能性小，使胃成为相对不利吸收的环境。但是也有一些制剂专门设计延迟药物在胃中的滞留，如一些由黏膜黏性水凝胶构成的胃滞留系统[68]。Akiyama 等[69]对微球在大鼠胃肠道中的滞留时间进行了评估。他们制备了两种类型的聚甘油酯酸（PGEF）微球：卡泊姆 934P 包衣微球以及卡泊姆 934P 分散微球。与包衣微球相比，分散微球在给药后滞留时间明显延长。此外，结果显示，微球可滞留在动物胃内。

小肠巨大的表面积适于营养物质和药物的吸收，小囊和绒毛形成巨大的面积。小肠上皮由含有 3 种类型柱状细胞的单层膜所构成：肠细胞、杯状细胞和肠内分泌腺细胞。肠细胞通过紧密连接和胞桥小体与其他细胞相连，杯状细胞是产生黏蛋白的单细胞腺，插入肠细胞中。肠内分泌腺细胞分散在肠细胞和杯状细胞之间，释放可改变局部环境或影响肠运动的激素。在回肠末端，有一个特定的肠免疫系统称为派伊尔氏淋巴集结。这一区域含有 M 细胞，这种细胞有特异性的内吞功能和处理肠内抗原的功能。大肠（盲肠）与小肠有相同的细胞量，其主要功能是吸收水分和电解质。肠中黏液的作用是使食物沿肠道顺利通过以及保护肠道免受细菌感染[70]。

在过去十年间，在成功设计经口给药的黏膜黏附给药系统时遇到了一些困难，原因可能是有黏膜黏附性的聚合物性质上的缺点或是消化道中特定的生理环境限制，可溶性黏蛋白和脱落的黏液、食物或肠腔其他内容物在到达吸收膜之前，便使给药系统失去黏附性。此外，只要凝胶状黏液本身与肠黏膜组织相连，给药系统的黏附便可维持。通过一个稳态过程，黏液更新持续地清除黏附于上皮细胞的黏液凝胶层[71]。

在人体肠道内增加黏附系统滞留时间的失败引领科学家对多功能黏附聚合物进行研究。黏膜黏附给药系统的研究阐明了一些黏附聚合物的其他特性，其中一种很重要的黏附聚合物，聚丙烯酸衍生物已被确认为是潜在的蛋白水解酶抑制剂[72～74]。各种类型的黏附聚合物和上皮细胞之间的相互关系直接影响黏膜上皮的通透性，这种影响是通过改变紧密连接的门通道性质进行的。不仅仅作为黏附剂，一些黏膜黏附聚合物也被认为是一类新型多功能高分子材料，具有可以作为药用辅料的特性[72,75]。

Lueβen 等[73,74]对生物黏附性聚丙烯酸盐、聚卡波非和卡泊姆 934P 抑制肠蛋白酶的功能进行了评价。这些聚合物能够抑制胰岛素、α-糜蛋白酶、羧肽酶 A 和 B 以及细胞质亮氨酸氨肽酶的活性。卡泊姆 934P 在降低蛋白水解酶活性方面比聚卡波非更有效[74]。聚卡波非和卡泊姆 934P 对二价阳离子如 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 有明显的结合性，这是抑制作用的主要原因。这些聚合物可分别从酶结构中除去 Zn^{2+} 和 Ca^{2+}，因此抑制了酶活性。在分别加入 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 时，羧肽酶 A 和 α-糜蛋白酶的活性是可逆的。因此，有结论称聚丙烯酸盐有望成为保护肽类药物在肠道降解的赋形剂。使用 Caco-2 小肠上皮细胞模型进行体外研究，显示卡泊姆 934P能够明显促进大分子细胞间转运荧光标记物（右旋糖酐）和肽类药物 9-去甘氨酰胺、8-L-精氨酸抗利尿激素[76]。

采用大鼠十二指肠内给药的方法测试了卡泊姆 934P 和壳聚糖凝胶体内增强肽类药物促性腺释放激素类似物的吸收能力[77]。两种聚合物都能显著增强肽的吸收，可能是由于渗透增强和酶抑制性质，生物黏附起次要的作用。与卡泊姆 934P 相比，壳聚糖能明显增强肽类药物经口腔的吸收[77]，这说明壳聚糖比之前 Artursson 等所阐述的对紧密联结有更加特异性的作用。

然而，壳聚糖及其盐在中性 pH 下溶解度较差，在 pH6.5 以上，它们在水溶液中便会发生聚集。最近的研究表明，只有质子化的壳聚糖（如在其非盘曲型的分子构型中）可以引起紧密连接打开，因此有利于亲水化合物的跨细胞转运[79]。这一性质意味着在 pH 接近于壳聚糖的 pK_a 的肠腔这一有限的区域内，其作为吸收增强剂才是有效的。由于这一原因，壳聚糖及其盐类对于靶向肽类药物至肠内特定区域，如空肠、回肠，可能是不适合的载体。为了克服这一难题，合成和标记了壳聚糖衍生物 *N*，*N*，*N*-三甲基壳聚糖氯化物（TMC）[80]。在更宽 pH 范围内，这种季铵化的壳聚糖比壳聚糖显示出更高的亲水性。在中性 pH（如 pH7.2）条件下，采用 Caco-2 小肠上皮细胞测试了不同三甲基化的壳聚糖盐酸可卡因和 TMC，增强了标有放射性同位素的 ^{14}C-甘露醇的渗透性。壳聚糖盐酸盐不能增强这些单分子层的通透性，三甲基化程度为 12.8%的 TMC 也是如此。然而，三甲基化程度为 60%的 TMC 可明显增强Caco-2 单分子层的通透性，也就是说聚合物电荷密度需达到一阈值才能引发紧密连接的打开[81]。由于缺少细胞毒和纤毛毒性，TMC 聚合物（尤其是高度三甲基化）有望成为提高肽类药物跨黏膜传递的安全的吸收增强剂[82]。

近来在大鼠体内和体外（Caco-2 细胞）的研究中，证

明了甲基化程度 60%的 TMC 是肽类药物布舍瑞林和奥曲肽很好的肠吸收增强剂。对于促性腺释放激素类似物和奥曲肽，可观察到绝对生物利用度分别为 13%和 16%（图 5）[83]。生物利用度提高更多取决于渗透增强作用，而不是 TMC 聚合物的黏附性质。但是黏附是这些聚合物作为吸收增强剂的先决条件。

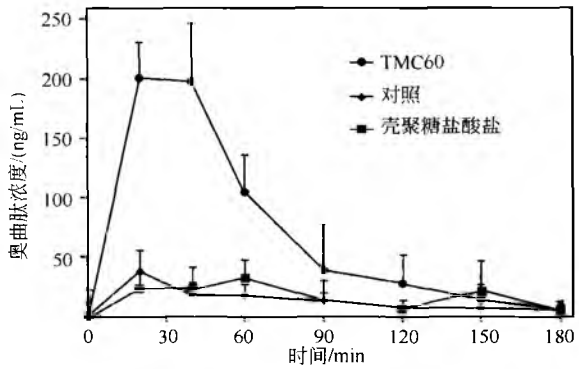


图 5 使用黏膜黏附性聚合物后大鼠肠道奥曲肽的吸收

对于聚合的或单体吸收增强剂，黏液也是其渗透增强作用的屏障。在之前提到的 TMC 研究中，增强作用（增强率为药物在聚合物中的渗透率与单独药物的渗透率之比）体外（Caco-2 细胞，无黏液分泌）比体内高。Meaney 和 O'Driscoll[84]采用 Caco-2 和 Ht29GlucH（黏蛋白分泌）细胞一起培养的模型研究了由牛磺酸钠构成的胶束系统的渗透性。他们发现，在培养的细胞中胆盐能增强亲水的跨细胞标记物的渗透，这种培养的细胞经过黏液溶解化合物 *N*-乙酰半胱氨酸的预处理。

Bernkop-Schnürch[85]制备了一系列蛋白酶抑制剂的结合物（抑胃肽、包曼-毕尔克、糜蛋白酶抑制素、弹性蛋白酶、抗痛素杆菌肽）和（或）EDTA 与三种不同聚合物（羧甲基纤维素、聚丙烯酸和壳聚糖）的结合物。除了它们的黏膜黏附性质外，这些结合物大部分有酶抑制性质。然而，通过与聚合物共价结合降低了这些蛋白酶抑制剂的毒性。已证明壳聚糖-EDTA 结合物是含 Zn 蛋白酶的专属抑制剂且有强的黏膜黏附能力[86]。

为了设计经口给药的高效黏附平台，Bernkop-Schnürch 等[87]提出带有巯基的聚卡波非修饰物，这是基于巯基有黏液溶解活性，这种活性是由于黏蛋白糖蛋白和黏液溶解剂之间的二硫化物交换反应引起的。与聚卡波非自身相比，聚卡波非-半胱氨酸结合物有很高的黏膜黏附性，原因在于改进的内聚力和凝胶的快速水化。然而，黏液更换仍是细胞表面黏附的限制因素。

所有先前提到的聚合物的评价主要是在肠内的应用。最后，也应该提到在胃肠道末段的直肠，作为药物输送和快速吸收的合适部位。Kim 等[88]开发了由泊洛沙姆和海藻酸钠制成醋氨酚的原位凝胶和黏膜黏附液体栓剂。人体实验发现这种醋氨酚制剂比传统的栓剂有更短的 T_{max} 和更高的血浆浓度 c_{max}。

对于有恶心症状的患者，栓剂为较好的剂型。Yahagi 等[89]评价了由 Witepsol H-15 和 2%卡泊姆 934P 制成的黏膜黏附栓剂，家兔直肠给予抗呕吐药盐酸雷莫司琼（5-羟色胺拮抗剂）后的吸收情况。与不含黏膜黏附聚合物的栓剂相比，这些栓剂增加了 2.5 倍的 $AUC_{(0\sim24h)}$，延长了滞留时间。在白鼬体内进行抗呕吐实验，发现含有卡泊姆 934P 的栓剂与静脉注射给药有相同的作用。这种制剂推荐采用一天一次的剂量治疗化疗引起的呕吐。

发展趋势和展望

本章介绍了大量作为新型药物输送平台的聚合体修饰物，为第二代的黏膜黏附水凝胶，这些聚合物不但作为安全的吸收增强剂[75]，而且作为改进的黏附水凝胶，代表了药物肠道吸收黏膜黏附给药平台的最新进展。

在过去十年里，另一个发展的是采用黏膜黏附聚合体进行脂质体包衣。脂质体包裹壳聚糖、长链 PVA 和聚丙烯酸酯而形成一个胆固醇基团[90]。体外实验显示，与其他聚合物包裹的脂质体相比，壳聚糖包衣脂质体对大鼠肠道有更好的黏附性质。在体内，含有胰岛素的壳聚糖包衣脂质体大鼠口服给药后，可显著降低血糖浓度，给药后此作用可持续 12h[90]。

另外一种新型黏膜黏附制剂为亚微粒乳剂（o/w），由卡泊姆 940 包衣的微滴。在大鼠体内，已证明该制剂能将抗利尿肽类药物去氨加压素的口服生物利用度提高 12 倍[91]。

特异性的黏附方法也显示出其发展前景。植物凝集素、贝类胶蛋白和 K99-菌毛等更加特异性地结合，可以代替传统的非特异性的黏膜黏附水凝胶。研究发现，马铃薯凝集素以相同的亲和力特异地结合在离体猪肠细胞和 Caco-2 细胞上[92]。然而，当猪胃黏蛋白的存在时，植物凝集素的结合被抑制，显示出明显的交叉反应。Irache 等[93]研究了与胶乳结合的三种不同的植物凝集素：马铃薯凝集素、芦笋豌豆凝集素和鸡败血支原体凝集素。当在没有派伊尔（氏）淋巴集结的大鼠肠黏膜上测试时，三种植物凝集素-胶乳结合物的相互作用从十二指肠至回肠依次降低。然而，当使用含有派伊尔（氏）淋巴集结的黏膜时，发现与黏膜结合的作用有明显增强，鸡败血支原体凝集素和芦笋豌豆凝集素的增强程度比马铃薯凝集素更高[93]。

黏膜黏附可以被小肠内大肠杆菌菌株所克隆，这种菌株由叫做菌毛的细胞表面抗原所介导[94]。菌毛是长的、线状的蛋白聚合物，在许多细菌族表面存在，能使细菌黏附到上皮细胞的刷状缘上。一种特异性的菌毛抗原——K99-菌毛已从大肠杆菌中分离出来，与聚丙烯酸结合。通过凝血作用测定结合物与马红细胞的结合能力，这种马红细胞与胃肠上皮细胞一样具有相同的 K-99 受体结构。结果显示，基质-K-99 抗原的结合比基质-卵白蛋白的结合的滞留时间长 10 倍[94]。

Y

贝类黏附蛋白（MAP）是由蓝贝（紫贻贝）产生的一种130kDa的蛋白质，与浸渍水的表面有很强的黏附能力。MAP膜通过烘干制备，在氮气环境下储存。采用猪的十二指肠进行体外研究，结果显示其黏附能力是聚卡波非的2倍[95]。

所有黏膜黏附聚合物的应用实例都说明，黏膜黏附水凝胶的应用是提高药物穿过黏膜上皮的有效方法。对于口腔、鼻腔、眼的给药，这些载体已经被成功使用。但是黏膜黏附聚合物在胃肠道的应用仍然等待突破。在不远的将来，特异性结合的原理可用于胃肠道的第三代黏膜黏附聚合物设计。

参考文献

1. Peppas, N. A.; Buri, P. Surface, Interfacial and Molecular Aspects of Polymer Bioadhesion on Soft Tissue. J. Controlled Release 1985, 2, 257—275.
2. Smart, J. D.; Kellaway. I. W.; Worthington, H. E. C. An In Vitro Investigation of Mucosa Adhesive Materials for Use in Controlled Drug Delivery. J. Pharm. Pharmacol. 1984, 36, 295—299.
3. Park, K.; Robinson, J. R. Bioadhesive Polymers as Platforms for Oral Controlled Drug Delivery: Method to Study Bioadhesion. Int. J. Pharm. 1984, 19, 107—127.
4. Harding, S. E.; Davis, S. S.; Deacon, M. P.; Fiebrig, I. Biopolymer Mucoadhesives. Biotech. Gen. Engin. 1999, 16, 41—86.
5. Duchêne, D.; Ponchel, G. Bioadhesion of Solid Oral Dosage Forms, Why and How? Eur. J. Pharm. Biopharm. 1997, 44, 15—23.
6. Ponchel, G.; Irache, J. M. Specific and Non-Specific Bioadhesive Particulate Systems for Oral Delivery to the Gastrointestinal Tract. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 34, 191—219.
7. Chen, H. M.; Langer, R. Oral Particulate Delivery: Status and Future Trends. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 34, 339—350.
8. Hoogstraate, J. A. J.; Wertz, P. W. Drug Delivery via the Buccal Mucosa. Pharm. Sci. Tech. Today 1998, 1, 309—316.
9. Ahuja, A.; Khar, R. K.; Ali, J. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. Drug Dev. Ind. Pharm. 1997, 23, 489—515.
10. Campbell, B. J. Biochemical and Functional Aspects of Mucus and Mucin-type Glycoproteins. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 85—103.
11. Leung, S. H.; Robinson, J. R. The Contribution of Anionic Polymer Structural Features to Mucoadhesion. J. Controlled Release 1988, 5, 223—231.
12. MacAdam, A. The Effect of Gastrointestinal Mucus on Drug Absorption. Adv. Drug Del. Rev. 1993, 11, 201—220.
13. Rubinstein, A.; Tirosh, B. Mucus Gel Thickness and Turnover in the Gastrointestinal Tract of the Rat: Response to Cholinergic Stimulus and Implication for Mucoadhesion. Pharm. Res. 1994, 11, 794—799.
14. Lehr, C.-M.; Poelma, F. G. J.; Junginger, H. E.; Tukker, J. J. An Estimate of Turnover Time of Intestinal Mucus Gel Layer in the Rat In Situ Loop. Int. J. Pharm. 1991, 70, 235—240.
15. Baier, R. E.; Shafrin, E. G.; Zisman, W. A. Adhesion: Mechanisms that Assist or Impede It. Science 1968, 162, 1360—1368.
16. Ponchel, G.; Touchard, D.; Duchêne, D.; Peppas, N. A. Bioadhesive Analysis of Controlled-Release Systems. I. Fracture and Interpenetration Analysis in Poly (acrylic acid) Containing Systems. J. Controlled Release 1987, 5, 129—141.
17. Duchêne, D.; Ponchel, G. Principle and Investigation of the Bioadhesion Mechanism of Solid Dosage Forms. Biomaterials 1991, 13, 709—714.
18. Peppas, N. A.; Ponchel, G.; Duchêne, D. Bioadhesive Analysis of Controlled-Release Systems. II. Time-Dependent Bioadhesive Stress in Poly (acrylic acid) -Containing Systems. J. Controlled Release 1987, 5, 143—150.
19. Lehr, C.-M.; Bouwstra, J. A.; Schacht, E. H.; Junginger, H. E. In Vitro Evaluation of Mucoadhesive Properties of Chitosan and Some Other Natural Polymers. Int. J. Pharm. 1992, 78, 43—48.
20. Mikos, A.; Peppas, N. A. Bioadhesive Analysis of Controlled-Release Systems. IV. An Experimental Method for Testing the Adhesion of Microparticles with Mucus. J. Controlled Release 1990, 12, 31—37.
21. Lehr, C.-M.; Bouwstra, J. A.; Tukker, J. J.; Junginger, H. E. Intestinal Transit of Bioadhesive Microspheres in an In Situ Loop in the Rat—A Comparative Study with Copolymers and Blends based on Poly (acrylic acid). J. Controlled Release 1990, 13, 51—62.
22. Chickering, D. E., III; Mathiowitz, E. Bioadhesive Microspheres. I. A Novel Electrobalance-Based Method to Study Adhesive Interactions between Individual Microspheres and Intestinal Mucosa. J. Controlled Release 1995, 34, 251—262.
23. Chickering, D. E., III; Jacob, J. S.; Mathiowitz, E. Bioadhesive Microspheres. 2. Characterization and Evaluation of Bioadhesion Involving Hard, Bioerodible Poly-

mers and Soft Tissue. Reactive Polymers 1995, 25, 189—206.

24. Park, K. A New Approach to Study Mucoadhesion: Colloidal Gold Staining. Int. J. Pharm. 1989, 53, 209—217.
25. Fiebrig, I.; Várum, K. M.; Harding, S. E.; Davis, S. S.; Stoke, B. T. Colloidal Gold and Colloidal Gold Labelled Wheat Germ Agglutinin as Molecular Probes for Identification in Mucin/Chitosan Complexes. Carbohydr. Polym. 1997, 33, 91—99.
26. Mortazavi, S. A.; Carpenter, B. G.; Smart, J. D. An Investigation of the Rheological Behavior of the Mucoadhesive/Mucosal Interface. Int. J. Pharm. 1992, 83, 221—225.
27. Mortazavi, S. A.; Smart, J. D. An Investigation into the Role of Water Movement and Mucus Gel Dehydration in Mucoadhesion. J. Controlled Release 1993, 25, 197—203.
28. Madsen, F.; Eberth, K.; Smart, J. D. A Rheological Assessment of the Nature of Interactions between Mucoadhesive Polymers and a Homogenised Mucus Gel. Biomaterials 1998, 19, 1083—1092.
29. Hägerström, H.; Paulsson, M.; Edsman, K. Evaluation of Mucoadhesion for Two Polyelectrolyte Gels in Simulated Physiological Conditions Using a Rheological Method. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000, 9, 301—309.
30. Rossi, S.; Bonferoni, M. C.; Lippoli, G.; Bertoni, M.; Ferrari, F.; Caramella, C.; Conte, U. Influence of Mucin Type on Polymer-Mucin Rheological Interactions. Biomaterials 1995, 16, 1073—1079.
31. Rossi, S.; Bonferoni, M. C.; Caramella, C.; Ironi, L.; Tentoni, S. Model-Based Interpretation of Creep Profiles for the Assessment of Polymer-Mucin Interaction. Pharm. Res. 1999, 16, 1456—1463.
32. Caramella, C. M.; Rossi, S.; Bonferoni, M. C. A Rheological Approach to Explain the Mucoadhesive Behavior of Polymer Hydrogels. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 25—65.
33. Jabbari, E.; Wisniewski, N.; Peppas, N. A. Evidence of Mucoadhesion by Chain Interpenetration at a Poly (acrylic acid) /Mucin Interface Using ATR-FTIR Spectroscopy. J. Controlled Release 1993, 26, 99—108.
34. Hertzog, B. A.; Mathiowitz, E. Novel Magnetic Technique to Measure Bioadhesion. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 147—173.
35. He, P.; Davis, S. S.; Illum, L. In Vitro Evaluation of the Mucoadhesive Properties of Chitosan Microspheres. Int. J. Pharm. 1998, 166, 75—88.
36. Fiebrig, I.; Harding, S. E.; Rowe, A. J.; Hyman, S. C.; Davis, S. S. Transmission Electron Microscopy Studies on Pig Gastric Mucin and its Interactions with Chitosan. Carbohydr. Polym. 1995, 28, 239—244.
37. Lehr, C.-M.; Bouwstra, J. A.; Spies, F.; Onderwater, J.; Van het Noordeinde, J.; Vermeÿ-Keers, C.; Van Munsteren, C. J.; Junginger, H. E. Visualization Studies of the Mucoadhesive Interface. J. Controlled Release 1992, 18, 249—260.
38. Sahlin, J. J.; Peppas, N. A. Enhanced Hydrogel Adhesion by Polymer Interdiffusion: Use of Linear Poly (ethylene glycol) as an Adhesion Promoter. J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 1997, 8, 421—436.
39. Zur Mühlen, E.; Koschinski, P.; Gehring, S.; Ros, R.; Tiefenauer, L.; Haltner, E.; Lehr, C.-M.; Hartmann, U.; Schwesinger, F.; Plückthun, A. Force Microscopy of Cells to Measure Bioadhesion. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 197—221.
40. Squier, C. A.; Wertz, P. W. Structure and Function of the Oral Mucosa and Implications for Drug Delivery. Oral Mucosal Drug Delivery; Rathbone, M. J., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 1—26.
41. Machida, Y.; Nagai, T. Bioadhesive Preparations as Topical Dosage Forms. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M. Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 641—657.
42. Bouckaert, S.; Lefebvre, R.; Remon, J.-P. In Vitro/In Vivo Correlation of the Bioadhesive Properties of a Buccal Bioadhesive Miconasole Tablet. Pharm. Res. 1993, 10, 853—856.
43. Lee, Y. L.; Chien, Y. W. Oral Mucosa Controlled Delivery of LHRH by Bilayer Mucoadhesive Polymer Systems. J. Controlled Release 1995, 37, 251—261.
44. Nair, M. K.; Chien, Y. W. Development of Anticandidal Delivery Systems. 2. Mucoadhesive Devices for Prolonged Drug Delivery in the Oral Cavity. Drug Dev. Ind. Pharm. 1996, 22, 243—253.
45. Remunan-Lopez, C.; Portero, A.; VilaJato, J. L.; Alonso, M. J. Design and Evaluation of Chitosan/Ethylcellulose Mucoadhesive Bilayered Devices for Buccal Drug Delivery. J. Controlled Release 1998, 55, 143—152.
46. Needleman, I. G.; Martin, G. P.; Smales, F. C. Characterisation of Bioadhesives for Periodontal and Oral Muco-

Y

Y

sal Drug Delivery. J. Clin. Periodontol. 1998, 25, 74—82.

47. Martin, E.; Schipper, N. G. M.; Verhoef, J. C.; Merkus, F. W. H. M. Nasal Mucociliary Clearance as a Factor in Nasal Drug Delivery. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 29, 13—38.
48. Zhou, M. P.; Donovan, M. D. Intranasal Mucociliary Clearance of Putative Bioadhesive Polymer Gels. Int. J. Pharm. 1996, 135, 115—125.
49. Illum, L.; Farraj, N. F.; Davis, S. S. Chitosan as a Novel Nasal Delivery System for Peptide Drugs. Pharm. Res. 1994, 11, 1186—1189.
50. Oechslein, C. R.; Fricker, G.; Kissel, T. Nasal Delivery of Octreotide: Absorption Enhancement by Particulate Carrier Systems. Int. J. Pharm. 1996, 139, 25—32.
51. Nakamura, F.; Ohta, R.; Machida, Y.; Nagai, T. In Vitro and In Vivo Nasal Mucoadhesion of Some Water-Soluble Polymers. Int. J. Pharm. 1996, 134, 173—181.
52. Illum, L.; Jorgensen, H.; Bisgaard, H.; Krogsgaard, O.; Rossing, N. Bioadhesive Microspheres as a Potential Nasal Drug Delivery System. Int. J. Pharm. 1987, 39, 189—199.
53. Illum, L. Bioadhesive Formulations for Nasal Peptide Delivery. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 507—539.
54. Nakamura, K.; Maltani, Y.; Lowman, A. M.; Takayama, K.; Peppas, N. A.; Nagal, T. Uptake and Release of Budesonide from Mucoadhesive, pH-Sensitive Copolymers and their Application to Nasal Delivery. J. Controlled Release 1999, 61, 329—335.
55. Soane, R. J.; Frier, M.; Perkins, A. C.; Jones, N. S.; Davis, S. S.; Illum, L. Evaluation of the Clearance Characteristics of Bioadhesive Systems in Humans. Int. J. Pharm. 1999, 178, 55—65.
56. Saettone, M. F.; Burgalassi, S.; Chetoni, P. Ocular Bioadhesive Drug Delivery Systems. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 601—640.
57. Joshi, A. Microparticulates for Ophthalmic Drug Delivery. J. Ocul. Pharmacol. 1994, 10, 29—45.
58. Hui, H. W.; Robinson, J. R. Ocular Delivery of Progesterone Using a Bioadhesive Polymer. Int. J. Pharm. 1985, 26, 203—213.
59. Davies, N. M.; Farr, S. J.; Hadgraft, J.; Kellaway, I. W. Evaluation of Mucoadhesive Polymers in Ocular Drug Delivery. J. Viscous Solutions. Pharm. Res. 1991, 8, 1039—1043.
60. Davies, N. M.; Farr, S. J.; Hadgraft, J.; Kellaway, I. W. Evaluation of Mucoadhesive Polymers in Ocular Drug Delivery. II. Polymer-Coated Vesicles. Pharm. Res. 1992, 9, 1137—1144.
61. Lehr, C.-M.; Lee, Y. H.; Lee, V. H. Improved Ocular Penetration of Gentamicin by Mucoadhesive Polymer Polycarbophil in the Pigmented Rabbit. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1994, 35, 2809—2814.
62. Saettone, M. F.; Monti, D.; Torracca, M. T.; Chetoni, P. Mucoadhesive Ophthalmic Vehicles: Evaluation of Polymeric Low-Viscosity Formulations. J. Ocul. Pharmacol. 1994, 10, 83—92.
63. Calvo, P.; VilaJato, J. L.; Alonso, M. J. Evaluation of Cationic Polymer-Coated Nanocapsules as Ocular Drug Carriers. Int. J. Pharm. 1997, 153, 41—50.
64. Chetoni, P.; Di-Colo, G.; Grandi, M.; Morelli, M.; Sacttone, M. F.; Darougar, S. Silicone Rubber/Hydrogel Composite Ophthalmic Inserts: Preparation and Preliminary In Vitro/In Vivo Evaluation. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1998, 46, 125—132.
65. Bonucci, E.; Ballanti, P.; Ramires, P. A.; Richardson, J. L.; Benedetti, L. M. Prevention of Ovariectomy Osteopenia in Rats after Vaginal Administration of Hyaff 11 Microspheres Containing Salmon Calcitonin. Calcif. Tissue Int. 1995, 56, 274—279.
66. Robinson, J. R.; Bologna, W. J. Vaginal and Reproductive-System Treatments Using Bioadhesive Polymer. J. Controlled Release 1994, 28, 87—94.
67. Richardson, J. L.; Armstrong, T. I. Vaginal Delivery of Calcitonin by Hyaluronic Acid Formulations. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 563—599.
68. Hwang, S. J.; Park, H.; Park, K. Gastric Retentive Drug-Delivery Systems. Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. 1998, 15, 243—284.
69. Akiyama, Y.; Nagahara, N.; Kashihara, T.; Hirai, S.; Toguchi, H. In Vitro and In Vivo Evaluation of Mucoadhesive Microspheres Prepared for the Gastrointestinal Tract Using Polyglycerol Esters of Fatty Acids and a Poly (acrylic acid) Derivative. Pharm. Res. 1995, 12, 397—405.
70. Schumacher, U.; Schumacher, D. Functional Histology of Epithelia Relevant for Drug Delivery. Bioadhesive Drug Delivery Systems; Mathiowitz, E., Chickering, D. E., III, Lehr, C.-M., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 67—83.
71. Lehr, C.-M. From Sticky Stuff to Sweet Receptors—

Achievements, Limits and Novel Approaches to Bioadhesion. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1996, 21, 139－148.

72. Lehr, C.-M. Bioadhesion technologies for the Delivery of Peptide and Protein Drugs to the Gastrointestinal Tract. Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. 1994, 11, 119－160.
73. Lueβen, H. L.; De Leeuw, B. J.; Pérard, D.; Lehr, C.-M.; De Boer, A. G.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. 1. Influence of Mucoadhesive Excipients on the Proteolytic Activity of Intestinal Enzymes. Eur. J. Pharm. Sci. 1996, 4, 117－128.
74. Lueβen, H. L.; Verhoef, J. C.; Borchard, G.; Lehr, C.-M.; De Boer, A. G.; Junginger, H. E. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. II. Carbomer and Polycarbophil are Potent Inhibitors of the Intestinal Proteolytic Enzyme Trypsin. Pharm. Res. 1995, 12, 1293－1298.
75. Junginger, H. E.; Verhoef, J. C. Macromolecules as Safe Penetration Enhancers for Hydrophilic Drugs－A Fiction? Pharm. Sci. Tech. Today 1998, 1, 370－376.
76. Lueβen, H. L.; Rentel, C. O.; Kotze, A. F.; Lehr, C.-M.; De Boer, A. G.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. 4. Polycarbophil and Chitosan are Potent Enhancers of Peptide Transport across Intestinal Mucosae In Vitro. J. Controlled Release 1997, 45, 15－23.
77. Lueβen, H. L.; De Leeuw, B. J.; Langemeyer, M. W.; De Boer, A. G.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. Mucoadhesive Polymers in Peroral Peptide Drug Delivery. VI. Carbomer and Chitosan Improve the Intestinal Absorption of the Peptide Drug Buserelin In Vivo. Pharm. Res. 1996, 13, 1668－1672.
78. Artursson, P.; Lindmark, T.; Davis, S. S.; Illum, L. Effect of Chitosan on the Permeability of Monolayers of Intestinal Epithelial Cells (Caco-2). Pharm. Res. 1994, 11, 1358－1361.
79. Kotzé, A. F.; Lueβen, H. L.; De Boer, A. G.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. Chitosan for Enhanced Intestinal Permeability: Prospects for Derivatives Soluble in Neutral and Basic Environments. Eur. J. Pharm. Sci. 1999, 7, 145－151.
80. Sieval, A. B.; Thanou, M.; Kotzé, A. F.; Verhoef, J. C.; Brussee, J.; Junginger, H. E. Preparation and NMR Characterization of Highly Substituted N-Trimethylchitosan Chloride. Carbohydr. Polym. 1998, 36, 157－165.
81. Kotzé, A. F.; Thanou, M. M.; Lueβen, H. L.; De Boer, A. G.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. Enhancement of Paracellular Drug Transport with Highly Quaternized N-trimethylchitosan Chloride in Neutral Environments: In Vitro Evaluation in Intestinal Epithelial Cells (Caco-2). J. Pharm. Sci. 1999, 88, 253－257.
82. Thanou, M. M.; Verhoef, J. C.; Romeijn, S. G.; Merkus, F. W. H. M.; Nagelkerke, J. F.; Junginger, H. E. Effects of N-trimethylchitosan Chloride, A Novel Absorption Enhancer, on Caco-2 Intestinal Epithelia and the Ciliary Beat Frequency of Chicken Embryo Trachea. Int. J. Pharm. 1999, 185, 73－82.
83. Thanou, M.; Florea, B. I.; Langermeyer, M. W. E.; Verhoef, J. C.; Junginger, H. E. N-Trimethylated Chitosan Chloride (TMC) Improves the Intestinal Permeation of the Peptide Drug Buserelin In Vitro (Caco-2 Cells) and In Vivo (Rats). Pharm. Res. 2000, 17, 27－31.
84. Meaney, C.; O'Driscoll, C. Mucus as a Barrier to the Permeability of Hydrophilic and Lipophilic Compounds in the Absence and Presence of Sodium Taurocholate Micellar Systems Using Cell Culture Models. Eur. J. Pharm. Sci. 1999, 8, 167－175.
85. Bernkop-Schnürch, A. The Use of Inhibitory Agents to Overcome the Enzymatic Barrier to Perorally Administered Therapeutic Peptides and Proteins. J. Controlled Release 1998, 52, 1－16.
86. Bernkop-Schnürch, A.; Krajicek, M. E. Mucoadhesive Polymers as Platforms for Peroral Peptide Delivery and Absorption: Synthesis and Evaluation of Different Chitosan-EDTA Conjugates. J. Controlled Release 1998, 50, 215－223.
87. Bernkop-Schnürch, S. A.; Schwarz, V.; Steininger, S. Polymers with Thiol Groups: A New Generation of Mucoadhesive Polymers? Pharm. Res. 1999, 16, 876－881.
88. Kim, C. K.; Lee, S. W.; Choi, H. G.; Lee, M. K.; Gao, Z. G.; Kim, I. S.; Park, K. M. Trials of In Situ Gelling and Mucoadhesive Acetaminophen Liquid Suppository in Human Subjects. Int. J. Pharm. 1998, 174, 201－207.
89. Yahagi, R.; Machida, Y.; Onishi, H. Mucoadhesive Suppositories of Ramosetron Hydrochloride Utilizing Carbopol. Int. J. Pharm. 2000, 193, 205－212.
90. Takeuchi, H.; Yamamoto, H.; Niwa, T.; Hino, T.; Kawashima, Y. Enteral Absorption of Insulin in Rats from Mucoadhesive Chitosan-Coated Liposomes. Pharm. Res. 1996, 13, 896－901.
91. Han, E.; Amselem, S.; Weisspapir, M.; Schwarz, J.; Yogev, A.; Zawoznik, E.; Friedman, D. Improved Oral Delivery of Desmopressin via a Novel Vehicle: Mucoad-

Y

Y

hesive Submicron Emulsion. Pharm. Res. 1996, 13, 1083—1087.

92. Lehr, C.-M. A.; Bouwstra, J. A.; Kok, W. Bioadhesion by Means of Specific Binding to Tomato Lectin. Pharm. Res. 1992, 9, 547—553.
93. Irache, J. M.; Durrer, C.; Duchêne, D.; Ponchel, G. Bioadhesion of Lectin-Latex Conjugates to Rat Intestinal Mucosa. Pharm. Res. 1996, 13, 1716—1719.
94. Bernkop-Schnürch, A.; Gabor, F.; Szostak, M. P.; Lubitz, W. An Adhesive Drug Delivery System based on K99-fimbriae. Eur. J. Pharm. Sci. 1995, 3, 293—299.
95. Schnurrer, J.; Lehr, C.-M. Mucoadhesive Properties of the Mussel Adhesive Protein. Int. J. Pharm. 1996, 141, 251—256.

（罗华菲　滕　洋　译）

药物输送中的液态结晶

Christel C. Mueller-Goymann

Universität Braunschweig Mendelssohnstr, Braunschweig, Germany

液态结晶的定义与形成

1. 定义

液态结晶具有液态和固态的性质，液态与其流动性有关，而固态则表现出其规则的晶体结构[1]。晶体固态表现出与分子位置和方向相关的短程与远程序列，如图 1 中的 a 所示。液态通常是无定形的，但也可能表现出与位置和方向相关的短程序列，如图 1 中的 b 所示。液态结晶至少显示出方向性的远程序列，也可显示出短程序列，但位置性的远程序列消失了（图 1）[2]。因此，液态结晶相表现出中间的状态，所以也称其为中间相（mesophases）。

液晶相形成的前提条件是不等轴的分子形状，它通常

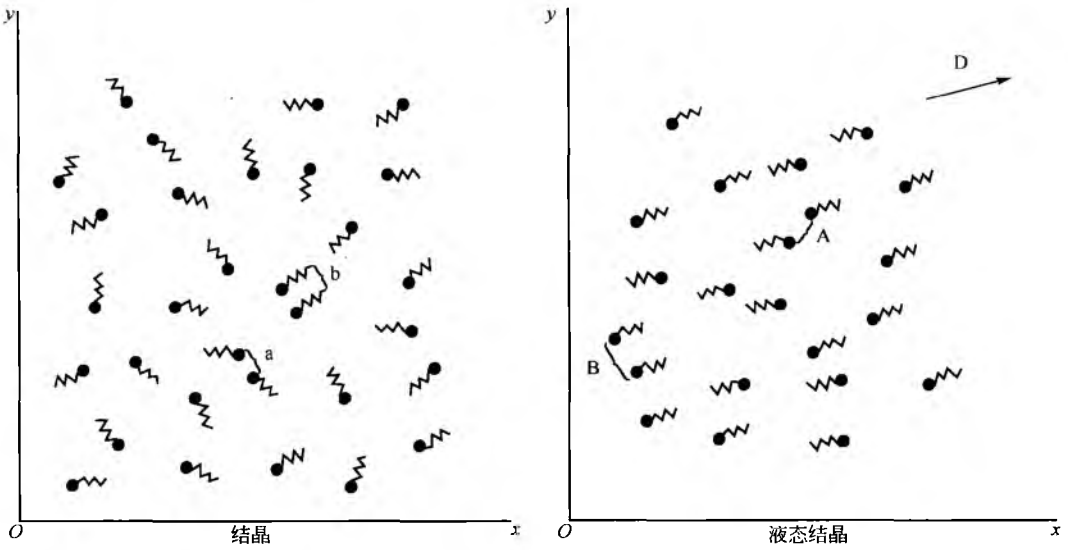


图 1 结晶态和液态结晶态的短程（a，b）和远程（A，B）序列的二维示意图[2]

与可极化性的显著各向异性有关。能形成中间相的分子称作液晶原（mesogen）。根据分子的形状，杆状液晶原形成杆状中间相，而盘状的液晶原形成盘状的中间相。杆状分子通常是一些辅料药（如表面活性剂），甚至一些药物本身（如不等轴分子形态的有机酸或有机碱的盐）也能够满足形成杆状中间相的条件。

2. 形成

从结晶态开始，可以通过增加温度或添加一种溶剂来达到中间相。因此，其区别就在于一个是热向性液晶，一个是液向性液晶。与热向性液晶一样，温度的改变会引起液向性液晶不同中间相的相转变。

2.1 热向性液晶

100 多年以前发现的杆状中间相为第一个液晶。1888 年，植物学家 Friedrich Reinitzer 在熔融胆甾醇时观察到双折射现象[3]，并联系了物理学家 Otto Lehmann，他是显微晶体专家，他将熔融的胆甾醇的双折射解释为液态结晶，一种新的状态中分子的平行定向[4]。但是，这些胆甾醇型液晶不仅表现出不等轴分子的平行定向，而且还有层层旋转的左旋或右旋螺旋定向［图 2（b）］。旋转 360°的层间距称为螺距，通常是在可见光范围内。这种现象，以及螺距随温度的变化，导致胆甾醇型液晶所特有的颜色。胆甾醇型需要液晶原本身或添加液晶原的手性。

向列型液晶与胆甾醇型液晶相似，只有远程序列的定位，而在优先的定位指向不会旋转这点上有所差异［图 2（a）］。但是如果手性液晶原溶解在向列液晶中，后者会转化成胆甾醇型液晶。

如果杆状中间相的分子是平行定向的，并且排列成层，我们就称之为层列型液晶［图 2（c～e）］。层平面与分子长轴垂直或倾斜，而且分子在层内规则排列（呈六面体排列），因此可以形成一个三维格子结构。与晶体不一样，层列型液晶态可以使分子绕着它们的长轴进行旋转。不同的层列液晶可以基于排列的不同来进行区分。

在温度增加时会发生相转变。例如，由晶体到层列型液晶 C、到层列型液晶 A、到向列型液晶、到等方向性溶

液，或者晶体到向列型液晶、到等方向性溶液。这些例子表明，不是所有可能发生的转变都会发生。根据产生的中间相的数量，可以区别热向性的一形性、二形性、三形性、四形性。

盘状液晶像层列型或胆甾醇型液晶那样由盘状分子形成，它们的结构特性与各自的向列型中间相类似，也就是说，盘状液晶的法线是平行定位的。与层列型液晶态不同的是，盘状圆柱形的液晶是由这些盘互相堆叠形成的。其中的柱状体形成一个二维格子结构，呈六边形或四边形排列，并且这些柱形体可能会倾斜［图 2（f）和 2（g）］。

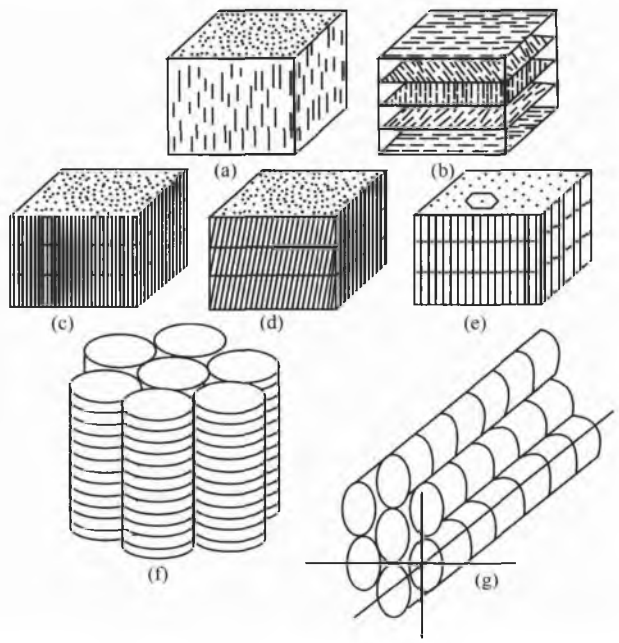


图 2 各种杆状和盘状热向性液晶的结构示意图
（a）向列型；（b）胆甾醇型；（c～e）层列型；
（f～g）六角柱状[5,6]

2.2 液向性液晶

液向性液晶与热向性液晶不同，其液晶原并不是分子本身，而是水合物或溶剂化物，也可以是与水合物或溶剂化物相关的物质。作为药物分子的最重要的溶剂，在水或水和有机溶剂的混合物存在的情况下，水合或溶剂化程度依赖于药物分子的亲水性亲油性。大多数杆状分子的水合化和溶剂化会形成不同的几何形状，如圆锥形或圆柱体（图 3）[7]。

圆柱体层状排列，形成薄片状相，由极性和非极性的层交替组成［图 4(a)］。水和水溶液可能包含在极性层中，导致层厚度的增加。相似地，亲和性分子可能包括在非极性层中。除了薄片状相层厚度的增加，在溶剂浓度的增加下，分子间的侧面包容也是可能的，这会将杆状的溶剂化分子转变成圆锥形（图 3），因此导致相转变。取决于溶剂化物或分子本身的极性或非极性，这种转变会形成六边形或反转六边形的相［图 4(b) 和 4(c)］。

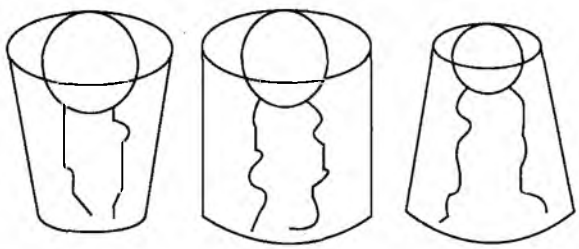


图 3 水合分子的几何形状。圆柱形为薄片状液晶，
圆锥形为六边形的或反六边形的液晶[7]

六边形相是根据溶剂化分子的杆状胶束的六边形包裹来命名的，其极性功能团指向结构外［图 4（c）］或结构内（图 4 中的反转六边形相）。在六边形相中，水或非极性溶剂的添加量是有限的。由于在进一步的溶剂化中分子的几何形状还会发生改变，会转变成立方体（I 型）或反转的立方体（IV 型），由圆形或椭圆形胶束或反转的胶束组成［图 4（d）和 4（e）］。

除了上述的立方体或反转立方体，在薄片状相和六边形液晶态（II 型）或反转六边形液晶态（III 型）之间还会发生进一步的相转变[12]。与 I 型和 IV 型的不连续相不同，II 型和 III 型立方体液晶态属于双连续的相［图 4（f）］。一系列的液向性液晶态是可能的，取决于液晶原的浓度，溶剂或分子本身的亲水亲油特性（表 1）。但是，在实际情况中，不是所有理论上可能的液晶态都会发生。

表 1 液向性结晶的可能转变[12]

胶束	←→	六边形	←→	薄片状	←→	反转六边形	←→	反转胶束
	I 型立方体		II 型立方体		III 型立方体		IV 型立方体	
溶剂的亲脂性和（或）两亲性化合物（AC）					AC 浓度			

2.3 脂质体

对于一些分子，高浓度会导致薄片状相，而在浓度减少时不会形成中间相。薄片状相分散在过量溶剂（水或水性溶剂）形成的同心层的粒子中，会导致囊泡状的分散。如果液晶原材料由磷脂组成，这种囊泡状分散就称为脂质体分散[13]。原则上，脂质体也可分布在油性连续介质中，但是，油性系统在药物处方中很少受欢迎。

脂质体由很多或很少的磷脂双分子层组成，或者也可以是单分子层（图 5）。基于此，多室脂质体（MLV）、寡室脂质体（OLV）、小单室脂质体（SUV）和大单室脂质体（LUV）就可以区分开来。进而，还可以形成多囊泡脂质体（MVL）。

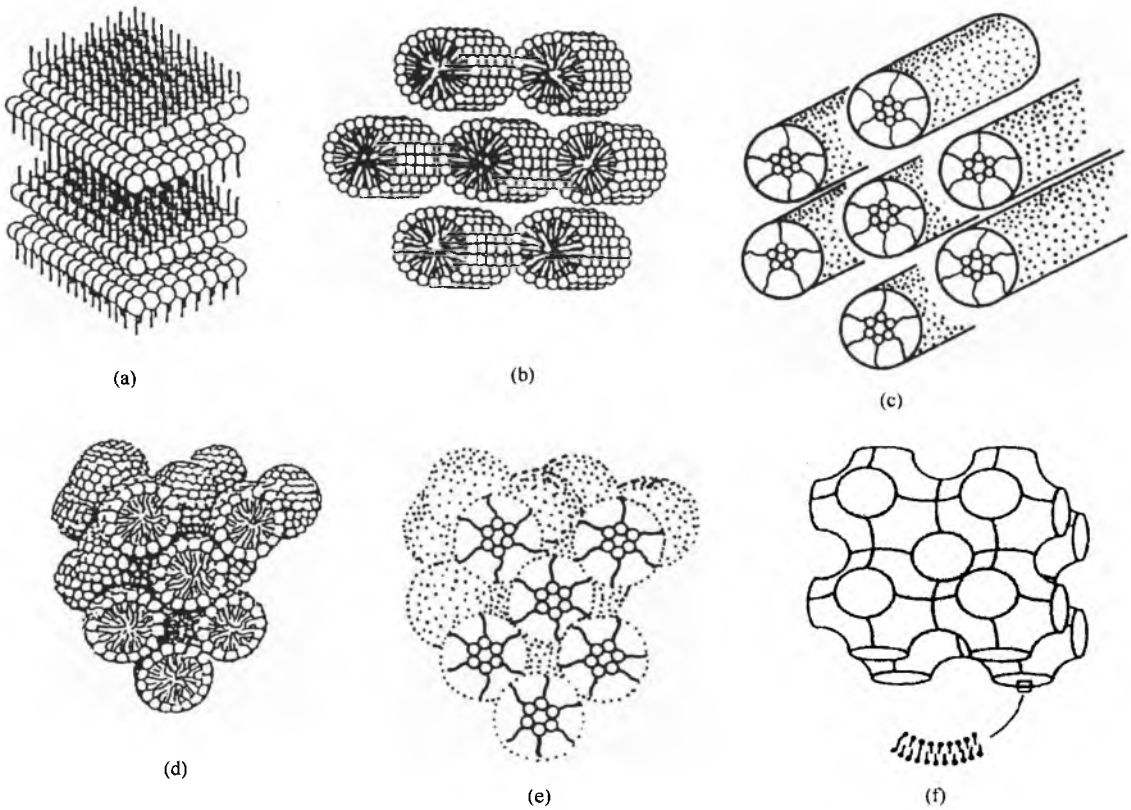


图 4　液向性液晶的分子结构。(a) 薄片状；(b) 六边形；(c) 反转六边形；(d) I 型立方体；(e) 反转 IV 型立方体；(f) II 型立方体[8~11]

脂质体核心的极性使极性药物分子可以被包裹。两亲和亲油分子可以根据它们对磷脂的亲和性溶解在磷脂双分子层中。如果将双分子层中的磷脂替换为非离子表面活性剂，则会形成大囊泡（Nisomes™）。鞘磷脂的囊泡用鞘脂状体（sphingosomes）表示。但是，命名并不一致，脂质体(liposome)是一个通称，尽管囊泡可能更适合些。

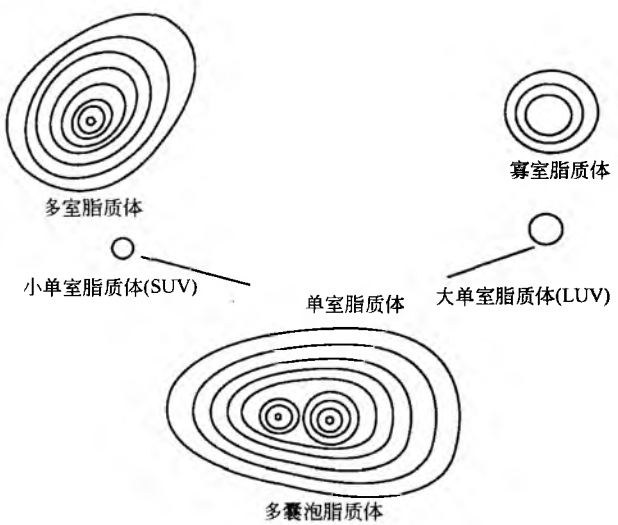


图 5　囊泡剖面的示意图，每条线表示水合分子的双分子层[2]

脂质体的标准生产工艺是成膜法。成膜之前，将磷脂溶解在有机溶剂中，通过将溶剂旋转蒸发，在容器的内壁上会形成磷脂的多层薄膜。将这些薄膜重新分散在水或水性缓冲液中就形成了囊泡。囊泡的大小和双分子层的数量会不同。因此，需要进一步的生产步骤以确保在足够的有效期内得到确定的泡囊分散。

为了减少囊泡的大小和双分子层的数量，合适的生产工艺是经过聚碳酸酯膜的高压过滤，或以法式挤压，或在微流体化器中高压均质化。也可以使用超声，虽然得到的分散状态中的粒子大小不同。

另外，采用注射法和反相渗析对于形成小单室脂质体和大单室脂质体比较合适。冷冻-熔融过程可以使药物能够载入脂质体，并且能提供对囊泡分散稳定性的评价。对于感兴趣的读者，推荐阅读文献 [13，14]。

2.4　液晶多聚体（LCP）

热向性和液向性液晶多聚体表现出的性质与其微结构有关[15,16]。不等轴单体，如杆状和盘状体以合适的方式形成链，这些不等轴单体可能是液晶原，或主链液晶多聚体或副链液晶多聚体，或两种形态的一部分（图 6）。在液晶原之间有灵活的非液晶原特性的空间。对于液晶的形成，足够的灵活性是不可缺少的，另外还可以增加温度或溶剂的浓度。

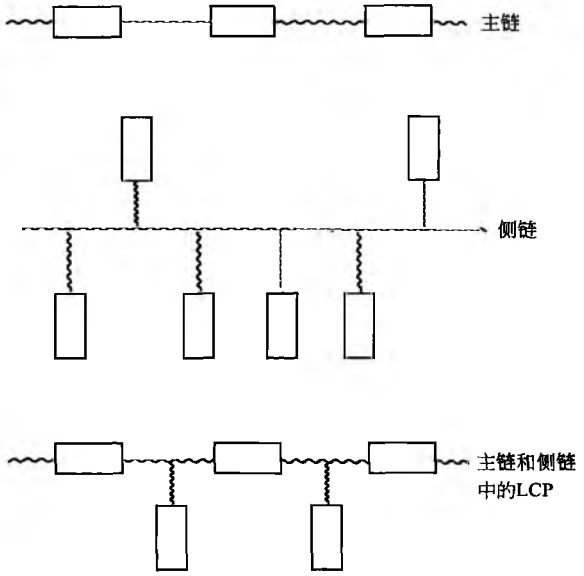


图 6 液晶多聚体，液晶原分别在主链、侧链和主侧链中[2]

液晶的表征方法

研究和表征液向性液晶的合适的方法也经常用于药物开发中，因而可以将其用在药剂实验室中。这些方法包括宏观的和微观的。

1. 偏振光学显微镜法

除了立方体的液晶，液向性液晶像真正的晶体一样显示出双折射现象。双折射可以通过偏振光学显微镜进行观察。两个起偏器交叉固定在被测双折射物体的上方和下方，起偏器的交叉位置提供了相互垂直的平面偏振波。因此，光在通过各向同性物体下方的起偏器时，就不能通过物体上方交叉位置的起偏器。在各向异性的物体中，部分光可以通过第二个起偏器，因为平面偏振波与入射光的平面相比已经旋转了一定的角度。

每一种液晶都会显示出典型的黑白相间的纹理。增加了λ电极的强双折射特性可以观察到纹理的显色效应，有黄色、蓝绿色和粉红色。显色效应是由于取决于波长的平面偏振光的旋转而产生的。λ电极的厚度与550nm的波长相适应。离开电极后，该波长会在与入射的白色偏振光相同的平面内旋转。因此，它们完全被第二个交叉位置的起偏器吸收。除了550nm的波长外，其他所有的白色光波长对于偏振面都有或多或少的旋转。因此，它们以不同的强度通过起偏器。白色光减少了550nm的波长（黄绿）会表现为粉红色。显微镜中有双折射液晶物质时会发生吸收波长的小偏差，因此可以观察到蓝绿色和黄色的纹理。

六边形液晶态可以通过其典型的扇形纹理识别出来[图7（a)]，层状液晶态通常显示出油性条纹嵌入在马耳他十字形纹理中[图7（b)]，后者产生于缺陷，所以称为共

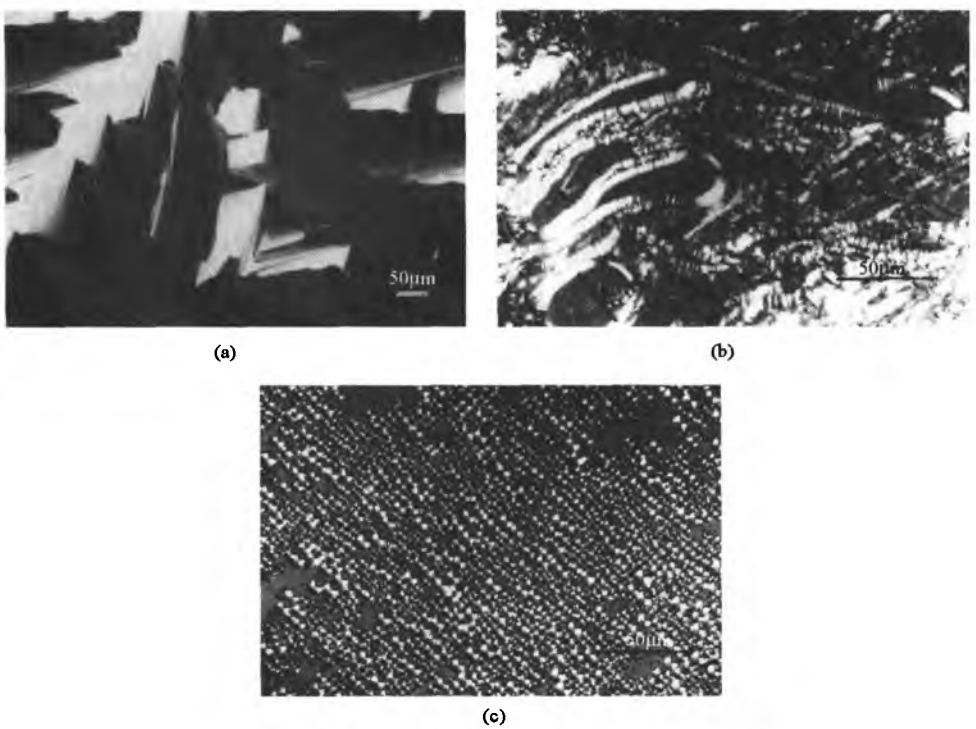


图 7 不同类型液晶的偏振光学显微照片[17]。(a) 六边形；(b) 和 (c) 薄片形

焦区域，是由平面层的同中心重排产生的。这些缺陷在一些层状液晶态中很普遍。因此，没有油性条纹，而马耳他十字形是主要纹理［图 7（c)］。

热向性液晶的层列型液晶态表现出不同纹理，但类似于液向性六边形液晶的扇形结构。要想更多对其理解推荐进行进一步的阅读[5]。

2. 透射电子显微镜法（TEM)

由于电子显微镜的高倍放大能力，我们可以观察到液晶的微结构。但是，水性样品在不失去水分的条件下不能存在于电子显微镜的高真空下，否则它们的微结构会发生改变。因此，在电子显微镜观察前，要对样品的制备做特殊技术处理。冷冻断裂技术在这方面被证明是成功的（图 8)。为此，

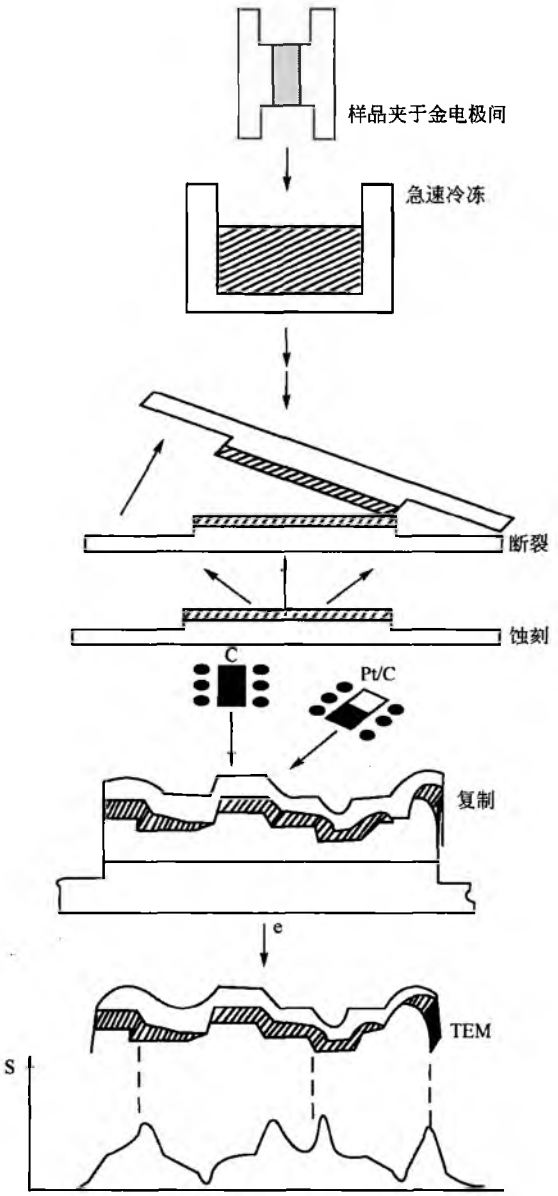


图 8 透射电镜的冷冻断裂复制技术[18]

制备样品的复制品在电子显微镜中进行观察。为了在复制中保持样品的原始微结构，首要的步骤是急速冷冻样品。在高冷冻速率(10^5～10^6 K/s)下，样品以薄层夹在两个金电极中，然后在氮冷丙烷的－196℃或液氮的－210℃的条件下进行急速冷冻。如果冷冻介质的温度远低于其沸点，就可以达到有效的冷冻速率。

样品池中的冻结样品转移到冷冻断裂仪器的接受器中，在－100℃和 10^{-6}～5×10^{-7} bar（1bar＝10^5 Pa，下同）的真空度下，断裂开始形成。在均匀的物质中，断裂是随机发生的，因为所有的结构单元的断裂是相等的。但是，即使是均匀的物质也经常是或多或少由一些极性区域组成。在极性区域内，通过氢键的强烈的相互作用防止了断裂。这样，极性区域内的断裂要比非极性区域内的较少发生。因此，在断裂后所得到的样品断面定性地表达了样品的微结构，而不是定量地表达。

冷冻断裂后立即蚀刻，导致了非固定组分的升华（通常是冰)，样品表面的等级差别表现得很显著。

此后，样品表面用 2nm 厚的铂金以 45°角遮蔽。比20nm 铂金厚 10 倍的碳层的垂直阴影给复制品提供了高度的机械稳定性，这就意味着处理起来可以相对容易，如去除、清洁、干燥以及最终在透射电子显微镜中的观察。

铂金以 45°角进行遮蔽提供了对比度上的差异，因为铂金沉淀会更好地、逆风地面向铂金原的样品位置发生，而在避风位的位置很少或不会进行遮蔽。在透射电镜中，不同厚度的铂金可以吸收不同范围内的电子束，因此可以形成遮蔽。这种现象导致复制品的透射电子显微结构的弹性表达。

图 9（a)～(c）表达了在冷冻断裂后未经蚀刻的不同液向性液晶的透射电子显微结构。层状液晶态的层结构，包括共焦区域，六边形液晶态中的杆状胶束的六边形排列，在立方体液晶中的球形胶束封闭清晰可见。

图 9（d）和（e）显示出泡囊的液体分散。泡囊越小，交叉结构就越不可能发生。因此，囊泡是单室还是多室的问题就不能回答出来。至少对于液体囊泡的分散，使用低温透射电镜可能会解决这个问题。

为了达到这个目的，有必要将冷冻样品的薄膜用四氧化锇进行充分的对比。然后样品就可以直接在透射电镜中进行观察（－196℃的温度)。将温度调整到－196℃可以产生很小的蒸气压，尤其是水，以至于探头的检查可以在高真空度下保持微结构。低温透射电镜的不利条件是囊泡要根据它们的大小进行分类。由于冷冻前囊泡分散的流体性质，样品膜的厚度从中心到外圈都有所变化。因此，小囊泡在中心位置，此时膜的厚度较薄，而大囊泡在外圈边缘，这里的膜较厚。在外围部分，囊泡很难被检测到。因此，结果分布并不代表实际的大小分布。

3. X 射线散射

在 X 射线散射试验中，有序的微结构会产生特异性的干涉[23]。典型的干涉模式是由于与层间间隔 d 相关的特异重复

Y

的距离产生的。按照 Bragg 方程，d 可以表示成 $d=n(\lambda/2)\cdot\sin\theta$。$\lambda$ 是 X 射线的波长（使用铜电极时是 0.145nm，使用铬电极时是 0.229nm）；n 是整数，表示干涉级数；θ 是干涉发生时的角度（符合反射条件），进一步的解释如图 10 所示。

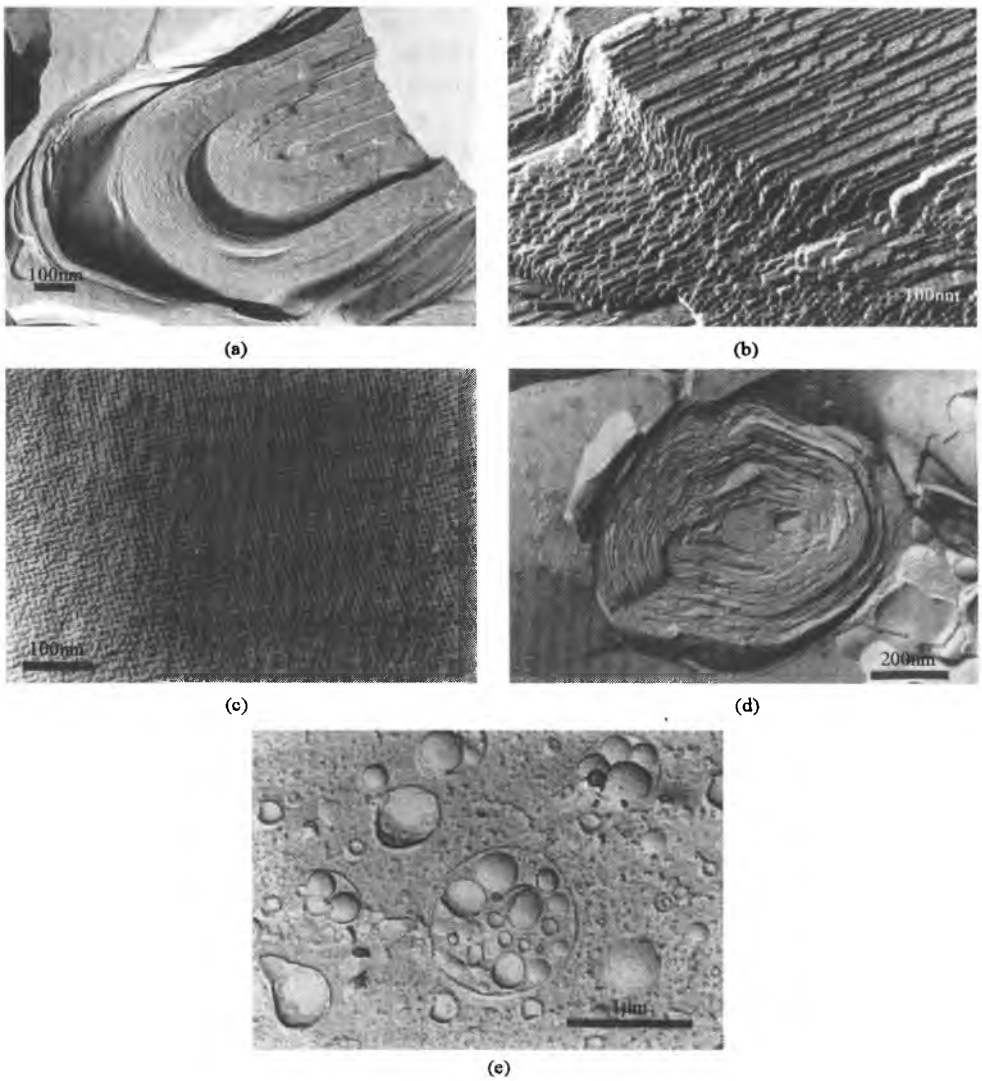


图 9 冷冻断裂液晶的透射电镜照片。(a) 共焦区缺陷的薄片形；(b) 六边形 100μm；(c) 立方体 I 型；(d) 含有十二烷基-PEG-23-醚、胆固醇和水的多室囊泡；(e) 多囊泡结构[19~22]

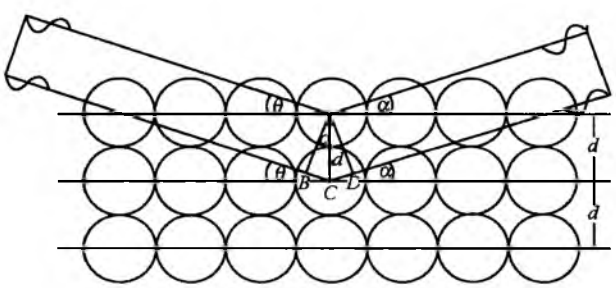


图 10 按 Bragg 方程的反射条件示意图

Bragg 方程指出了 d 和 θ 之间的反比例关系。用小角度 X 射线衍射（SAXD）可以显示出远程序列区域的大范围 d，用大角度 X 射线衍射（WAXD）可以显示出短程序列区域的小范围 d。小角度 X 射线衍射对于准确确定液晶系统 d 的距离是非常重要的，而大角度 X 射线衍射，在缺少干涉的情况下，可以识别出液晶系统中短程序列的缺失，这是晶体状态的特性。

干涉可以用两种方法进行检测：一种是薄膜检测；另一种是用闪烁计数器或位置敏感检测器的 X 射线计数。

但是，小角度 X 射线衍射不但能检测可计算的层间间距的干涉，而且可以从干涉的序列来决定液晶的类型[24,25]。

不同液晶的干涉序列如下：

层状 1∶1/2∶1/3∶1/4…

六边形 $1:1/\sqrt{3}:1/\sqrt{4}:1/\sqrt{7}\cdots$

立方体 $1:1/\sqrt{2}:1/\sqrt{3}:1/\sqrt{4}\cdots$

立方体 $1:1/\sqrt{4}:1/\sqrt{5}:1/\sqrt{6}\cdots$

4. 差示扫描量热法（DSC）

相转变在相应的系统中会有能量的变化，这种现象是由于焓 ΔH 或熵 ΔS 的改变而引起的。焓的改变会引起吸热或放热反应，这依赖于相转变是消耗能量（固体熔融）还是释放能量（各向同性熔融物的重结晶）。

应该提及，从晶体到无定形的转变需要很多能量，而从晶体到液晶，液晶到无定形，特别是两种不同液晶之间的部分转变只需要消耗较低的能量。因此，需要注意到测量仪器的灵敏度和足够的最低检测限度[26]。

熵引起的相转变可以由特异的热容引起的基线斜率的改变识别到。特别是液晶多聚体的相转变是熵的结果，这就是二级转变，通常称为玻璃化转变。它们可以覆盖焓效应以至于使检测可能比较复杂。

5. 流体学

不同类型的液晶表现出不同的流体学性质[27,28]。随着液晶中微结构组织的增加，它的密度会增加，而且流体的行为会变得黏稠。运动黏度系数 η，尽管是理想黏性流体（牛顿流体）的黏度标准，但是对于立方体和六边形液晶，其黏度系数相当高，而层状液晶却相当低。但是，流体的性质不符合牛顿流体，对于立方体和六边形结晶是弹性的，层状的结晶是假弹性的。

对于热向性液晶，黏性按以下顺序递增：

向列型＜层列型 A＜层列型 C

液向性液晶流动性低，如立方体和六边形液晶态分别具有三维和二维序列，导致低流动性。层状液晶态是一维的远程序列，具有相当高的流动性。由于其所具有的胶体特性，立方体和六边形液晶态还表现出流动前的屈服应力。与相应的反转液晶不同，由于与表面定位相联系的极性功能团的相互作用，胶体特性更明显。通过极性作用，如氢键，使联系物相互形成强大的网络结构。另外，反转液晶态联系物的表面由相关分子的非极性团组成，因此，导致的相互作用不是很强，而且胶体很容易变形。

机械振动测量法是确定液晶胶体弹性的优选方法。在不施加剪切力时，液晶的黏弹性可以在不改变网状微结构的情况下进行研究，就流体研究的机械变形而言，这种情况经常会发生。根据振动实验，可以定量立方体和六边形液晶以及层状液晶态的黏弹性和囊泡的高度浓缩分散状态（也会表现出黏弹性）。囊泡以低浓度分散在内相中，但是却表现出理想的黏性流的性质。根据爱因斯坦方程，η 要比连续相中的 η_0 大很多。连续相通常是纯水或溶剂，多相因子是分散相体积比 Φ 的 2.5 倍。

$$\eta=\eta_0(1+2.5\Phi)$$

式中：η_0 为纯溶剂（连续相）的黏度；Φ 为内相的体积比。

6. 激光散射法测定囊泡大小

囊泡的大小不仅在制备控制，而且尤其在质量保证上都是很重要的参数，因为囊泡分散的物理稳定性依赖于粒子大小和粒子大小的分布。合适且快速的测定方法是激光散射（粒子大小）与衍射（粒子大小分布）。根据 Fraunhofer 的衍射理论，衍射强度与粒子直径的平方成正比，激光衍射方法可以测定直径大于 1μm 的粒子。

Rayleigh 的理论支持小于 200nm 的粒子，因为他认为散射强度与粒子直径的六次幂成正比。Fraunhofer 和 Rayleigh的理论都只是对 Mie 理论的近似，Mie 认为，散射强度与散射角、吸收、粒子大小以及粒子和分散介质的折射率有关，然而，后面的参数很难确定。另外，大多数囊泡分散是由分散的液晶态组成的，其中的粒子大小从 200nm～1mm 不等。因此，光子相关光谱（photon correlation spectroscopy，PCS）是基于激光光散射的方法，它提供了进行研究的较为合适方法[29]。

分散中动力学引起的过程，如布朗分子运动，经光子相关光谱法测量，可以引起光散射强度在一定时间内的改变。粒子越小，布朗运动就越激烈。因此，所测量的不同强度之间的相关性只在以很短的时间间隔才可能明显。在一级动力学的单相分散系统中，自动相关功能减少得相当快。在半对数的自动相关功能图表中，用曲线的斜率可以通过 Stokes-Einstein 方程计算出流体动力学的半径范围。采用商业使用的光子相关光谱装置，可以确定与流体动力学的半径范围相应的 z 均值。

在多相系统中，可以计算出粒子大小的分布，而且是通过特殊的转换计算。对此，需要满足特殊的要求：粒子形状为球形，经过充分稀释，内相与外相的折射率相差很大。通常不能满足所有的要求，z 均作为直接可得的参数，根据模型更可以表示为分布功能。

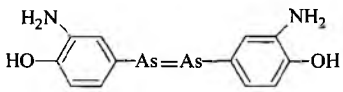
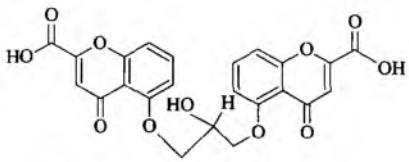
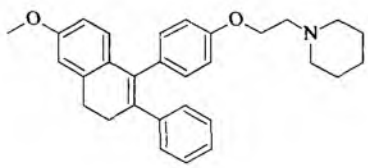
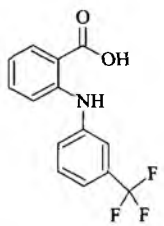
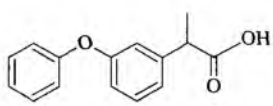
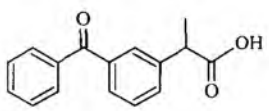
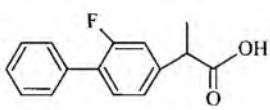
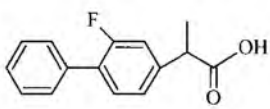
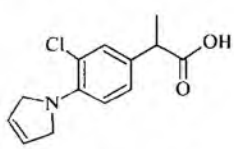
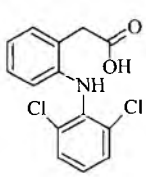
液晶在药物输送中的应用

1. 液晶药物

一些药物可以在有溶剂时形成液晶态或单独形成液晶态[30~37]。在后一种情况下，温度上升会引起固态向液晶的转变，称为热向性液晶。液向性液晶发生在与溶剂组合的过程中，通常是水。因而，温度的变化可能会引起更多的转变。热向性液晶态和液向性液晶态的药物可能会与结晶态介质以及人体内的液晶结构相互作用。表 2 列出了有热向性液晶态或液向性液晶态的药物。

Y

表 2 液态结晶药物

药物	液晶类型	结构式	参考文献
肿凡纳明	向列的		[30]
色甘酸二钠	向列的，六边形的		[31]
萘福西丁盐酸盐	六边形，立方体，薄片形		[32]
氟灭酸丁酯二乙胺盐	薄片形		[33]
苯氧布洛芬	薄片形		[34]
酮洛芬	薄片形		[34]
布洛芬	薄片形		[34]
氟比洛芬	薄片形		[34]
吡丙芬	薄片形		[34]
双氯芬酸	薄片形		[36]
多肽激素	LH-RH 类似物		[35]

19世纪上半叶，以Salvarsan的商品名用于治疗的肿凡纳明是第一个具有热向性液晶态的药物[30]，这种药物有抗微生物效果，是对于梅毒这种古老疾病首次有效的治疗药物。现今，它被严重副反应较少的抗生素所取代。

肿凡纳明的分子结构是经典的热向性液晶原。原子成对称排列，与色甘酸二钠相同[30]，会形成热向性液晶，在有水的情况下会有额外的液向性液晶。如果微粉化的色甘酸二钠粉末用于鼻腔黏膜或支气管黏膜，粉末会从呼吸道的高相对湿度的部位吸收水分，首先转化成液向性液晶态进入溶液中。

色甘酸二钠是肥大细胞的稳定剂。肥大细胞位于呼吸道的黏膜上，接触过敏原后释放组胺物质，使患者可以预先感知。由于其具有稳定肥大细胞的作用，色甘酸二钠是与哮喘和干热等有关的过敏反应的预防药。除了其所具有的预防作用，色甘酸二钠对哮喘起到了第二种方式的治疗，但目前还不能完全阐明。根据最近的发现，色甘酸二钠对于支气管黏膜的炎症有正面效果。

为了达到治疗的目的，经常使用的一类药物为非甾体抗炎药物（NSAIDs）。最有名的代表产品是芳香乙酸衍生物双氯芬酸，以及芳香丙酸的衍生物布洛芬。由于都具有酸性，它们在溶解后会解离，并可能形成两性的盐。与合适的反离子一起，这些两性有机酸可能在室温或体温情况下，在水中形成液向性液晶态，如双氯芬酸二乙胺或布洛芬赖氨酸[34,36]。进而，一些脱水的非甾体抗炎药物，如非诺洛芬钙，在晶体盐加热脱水后表现出热向性液晶态。

表2中所列的其他药物都没有用作治疗药物。

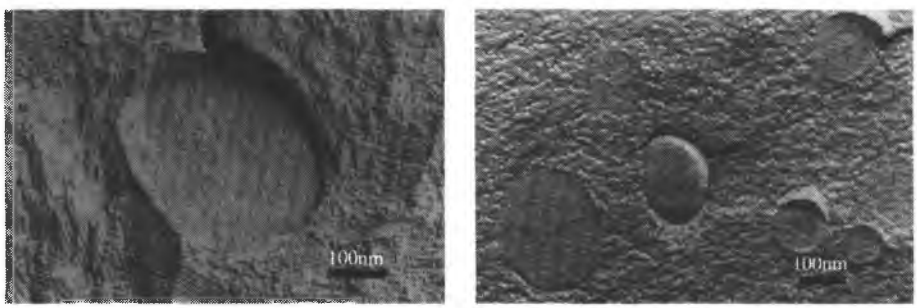
2. 用于皮肤的液晶处方

只要两性药物分子形成液向性液晶态，药物处方中两性的辅料成分也会形成液向性液晶态。尤其是表面活性剂，通常在皮肤用药处方中作为乳化剂，在溶剂中溶解后形成胶束。随着胶束浓度的增加，这些胶束之间的相互作用也会增强，从而形成液晶。

2.1 表面活性剂凝胶

相对来说，使用液向性液晶的单相系统较少，仅限于胶体。不同的极性表面活性剂在水化后形成球形或椭圆形胶束，如聚氧乙烯脂肪醇。在高浓度表面活性剂存在的条件下，这些结合体密集地包裹在一起，因此形成了立方体液晶[20]。

图9（c）是这种类型液晶表面活性剂胶体的透射电镜照片。这些胶体是光学透明的，如果经过机械搅拌，它们的弹性会更明显。由于听力范围内的共振效应，它们也被称为响铃胶体（ringing gel）。经过水化表面活性剂的增溶作用，亲脂性成分与主要活性成分一起溶解。但是，增溶亲脂成分的容量是有限度的。超过这个限度，过多的亲脂成分就会在液晶相中以液滴状分散［图11（b)］。因为在连续的液晶和分散的油相界面的折射指数不同，这种系统表现出白色。分散的液滴是机械稳定的，因为不管是六边形液晶［图11（a)］或是立方体［图11（b)］，液晶都具有屈服应力。



(a) (b)

图11 冷冻断裂油滴分散在（a）六边形和（b）立方体液晶相中的透射电镜照片[38]

具有立方体液晶微结构的响铃胶体可以用作商业药物的处方，尤其是局部用非甾体抗炎药的处方。例如，在德国市场中有Contrheuma Gel Forte N、Trauma-Dolgit Gel和Dolgit Mikrogel。Dolgit Mikrogel在1996年上市，其活性成分为布洛芬。一方面，这种胶体需要高浓度的表面活性剂来证明液晶的微结构；另一方面，这个浓度可以通过增加渗透性来影响角质层组织的脂质。这种效果用乙醇也可以达到，它同样可以溶解在处方中。图12显示了离体的人角质层渗透试验的结果。Dolgit Mikrogel的每单位时间和面积布洛芬的渗透量远高于药物的水性混合胶束溶液。虽然液体制剂可以具有相对高的渗透率，但是商业处方明显更有效，因为其中的高浓度表面活性剂和乙醇导致了高渗透性。

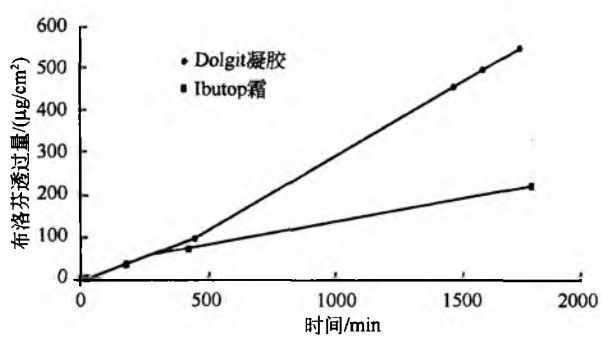


图12 不同处方中布洛芬穿透人离体角质层[39]

Y

液晶微结构的响铃表面活性剂凝胶包括在1995年进入德国市场的抗真菌药联苯苄唑（Bifomyk gel）。与包含非甾体抗炎药的表面活性剂凝胶相似，在皮肤的抗真菌治疗中，期望活性成分的渗透会有所改进。但是，只有相对高浓度的表面活性剂才能形成液晶结构。所以，改进的、渗透的正面效应需要与可能的刺激一起考虑。其目的是通过改变皮肤结构，在最小的刺激下可能达到改进的、渗透的效果。因为，真菌菌丝可以滑过角质层细胞穿透到达较深的表皮层，抗真菌效果的改进是尤其重要的。非甾体抗炎药渗透表皮层也是一样的，因为它们必须到达位于深层的肌肉和关节组织中。

2.2 软膏和乳膏

通常，软膏和乳膏中的表面活性剂浓度要比表面活性剂凝胶中的低得多。软膏是非水制剂，而乳膏是通过软膏加水制得的。软膏和乳膏的微结构都是由液晶组成，只是液晶的网状结构或骨架是由两性分子组成的。在液晶结构中，通过剪切很容易使系统变形，此时处方就显示出通过剪切的弹性触变流体行为。与那些经过剪切后晶体结构不可逆地被破坏的系统相比，有液晶结构的系统表现出被剪切骨架的短暂恢复时间。为了得到液晶骨架，必须选择在室温时可以形成液向性液晶的两性表面活性剂。薄片状液晶可以更好地增溶大量的组分，并且在整个处方中以网络交联的骨架分布。相比之下，含有长链脂肪醇（如十六烷醇或硬脂醇）的软膏可以在室温下拥有液晶结构[40]。

虽然所谓的脂肪醇的α相结构，即双层结构中分子呈六边形排列的热向性层列状B型液晶，在生产制备过程中一开始由熔融物形成，但冷却时通常转变成晶体。但是，如果在冷却至室温时α相结构可以保持其稳定性，胶体结构的晶体化就可以避免。这可以通过组合一定比例的表面活性剂，如肉豆蔻醇、月桂醇和胆固醇，在室温中形成片层状液晶[41]。由于熔点的降低，由晶体转变到液晶，以及由液晶转变到各向同性溶液的相转变温度会降低。因此，在室温时可以得到液晶微结构。

表面活性剂分子的极性使软膏加水可以形成乳膏。根据表面活性剂或其混合物的极性的强弱，可以形成水包油或油包水的乳剂。油包水的乳膏是由单一弱极性的表面活性剂稳定形成的系统，表面活性剂有脂肪醇、胆固醇、甘油单酯或山梨酸酯。表面活性剂或表面活性剂混合物在分散的水相和连续的油相界面之间被吸附。如果液晶原分子的浓度高到足以形成其自身的液晶相，则即使是多层的表面活性剂也会被吸附（图13）。除了表面张力和表面能的减少外，液晶界面对乳化液滴也有机械稳定作用。

不像单一的脂肪醇，脂肪醇硫酸酯这种表面活性剂可以高度水化，这样就可以稳定水包油的乳剂。阴离子表面活性剂和非离子表面活性剂的组合使用被证明是特别有效的，那是因为界面处离子表面活性剂的静电排斥力被非离子表面活性剂的介入减少了，因此改善了乳化稳定性。将十六烷基/十八烷基硫酸酯（Lanette E）和十六烷基/十八烷基醇（Lanette O）组合可以得到乳化的十六烷基/十八烷基醇（Lanette N）就是这种方式的例子。这些混合表面活性剂的极性占主导地位，因此形成了水包油乳剂。与油包水系统相比，表面活性剂混合物的稳定效果并不主要是由于表面吸附，而是由于混合表面活性剂高度水化，并形成片层状网络，分散在整个连续水相中，而分散的亲油成分被固定在胶体网络中。但是，这种水凝胶骨架并不像相应的十六烷基/十八烷基醇的油包水乳剂，在室温下并不是结晶，而是一种α相，属于热向性层列型液晶，并与液向性液晶极其相似。



图13 w/o乳膏的冷冻断裂透射电镜照片。水相以液滴分散于连续的油相中，界面为多层的水化表面活性剂双分子层[41]

液晶片层相的类似凝胶结构也可以由非离子液晶原形成。例如，十六烷基/十八烷基醇和聚氧乙烯脂肪醇的组合提供了表面活性剂分子亲水亲油的或多或少的平衡特性，有利于片层状结构的形成。

3. 脂质分散体

虽然从1970年开始就对脂质体进行了广泛的研究，但是只有很少商品药物的处方以脂质体作为药物的载体[42,43]。首个上市的用于局部给药的脂质体药物是在意大利注册的。抗真菌的益康唑被包裹在脂质体中，并分散在水凝胶中（ecosom liposomengel，以前称为 pevaryl lipogel）。由于形成了亲水多聚物的高度水化胶体的网状结构，所以，脂质体固定在胶体网络中被机械稳定。这种通过凝胶化连续水相的稳定化作用也可以应用到其他分散系统中。乳剂/水凝胶组合的一个例子是肝素钠作为活性成分，脂质体作为附加的分散相的肝素脂质体（hepaplus liposome）。一种是与乳剂/水凝胶的组合相似的组合，却没有附加的脂质体的扶他林乳胶（voltaren emulgel）。电镜透射显示，片层状液晶位于分散的油滴与连续的水相界面（图14）。连续的水相又是基于聚丙烯酸的水凝胶，其中的亲油相被固定。界面由多片层组成，而多片层由表面活性剂和药物分子组成。这样，水凝胶不但可以被其自身的网络结构所稳定，还可以被液晶界面所稳定，这样会提供额外的稳定化作用。活性成分双氯芬酸二乙胺从分散相通过多片层界面缓慢进入连续相中，然后透过表皮。

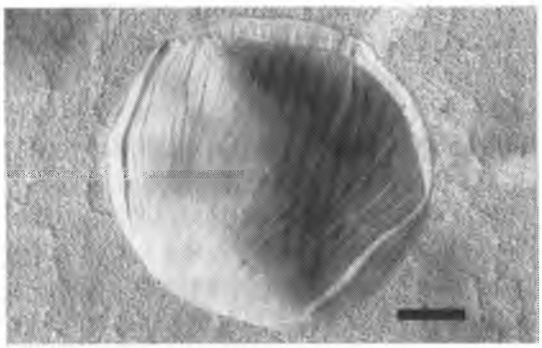


图 14 扶他林乳胶剂的透射电镜照片。连续凝胶相和分散乳滴的界面含有多层的水化表面活性剂双分子层[44]

与扶他林乳胶相似，利多卡因和丙胺卡因的共熔混合物的油滴分散在水凝胶中，给注射与外科治疗提供了皮肤局部麻醉的效果（Emla cream）。脂质分散体可进一步作为皮肤给药的喷雾剂（Heparin PUR Ratiopharm Sprühgel），在给药后，水和异丙醇部分蒸发导致浓度增加，因此从最初的脂质分散体转变到片层状液晶[45]。这样，治疗效果仅仅受到卵磷脂的影响，而不是受脂质体的分散度的影响。

3.1 非胃肠道给药的脂质分散体

根据非胃肠道给药脂质体的粒径和表面电荷，它们与网状内皮系统（RES）相互作用并激活免疫反应。在被特定的血浆蛋白（称为调理素）吸附后，它们就被识别为入侵者，主要被肝脏、脾脏和骨髓中的特异性免疫细胞破坏。

这种被动的药物靶向对这些器官或被它们影响的细胞的治疗是有效的。通过肝、脾寄生虫疾病治疗的临床试验证明，将药物包裹在脂质体中是最有效的。除了被动药物靶向，药物包裹在脂质体中也可以在强度和持续时间上提供改变的治疗效果，并使不期望的副反应程度降到最小。为了达到这个目的，脂质体必须尽可能地在血管系统中保持长循环，并避免被噬菌细胞识别。

将抗菌的两性霉素包裹在脂质体中，商品名为 AmBisome，用于治疗严重的系统性霉菌病。脂质体的包裹减少了两性霉素的毒性，增加了药物的半衰期和血药峰浓度[43]。由于稳定性的缘故，非胃肠道处方的形式是冻干粉末，使用前必须用溶剂重新进行分散。

有细胞稳定作用的柔红霉素，用于 AIDS 患者卡波氏肉瘤的晚期，包裹于 45nm 的脂质体中[43]。脂质分散体是作为无菌、无热原的浓缩物上市的（DaunoXome），滴注前需要用 5%葡萄糖溶液进行稀释。虽然柔红霉素本身具有心脏毒性，但脂质体处方对心脏的损害是微不足道的，而被肿瘤细胞优先摄取，从而强烈影响肿瘤细胞。有人推测，小单室脂质体可以穿过由肿瘤新形成的毛细血管内皮孔隙而进入肿瘤组织，在这个位点，药物从脂质体载体中释放出来，并抑制肿瘤细胞的增殖。

3.2 进入肺部的脂质分散体

脂质体处方中含有表面活性剂，通常支气管黏膜覆盖有表面活性剂，以防止肺囊泡的塌陷，用于治疗婴儿或成人呼吸窘迫综合征。婴儿呼吸窘迫综合征多发于早生婴儿，他们还没有形成功能性的肺表面活性物质，因此在肺部进行气体交换有困难。成人呼吸窘迫综合征也是一种致命的肺功能衰竭，在疾病或事故中可能发生。临床试验表明，脂质体表面活性剂对于婴儿呼吸窘迫综合征或成人呼吸窘迫综合征能有效地进行预防性治疗。

表面活性剂可以从牛肺中通过洗涤、离心数次后进行提取。将粗提物用合适的有机溶剂进行处理，无菌过滤，在无菌条件下将溶剂蒸发干燥，重新在水中混悬，最后在冷却条件下用法式挤压方法均匀加工而成。在所有的过程中必须关心提取物的无菌性。更需要注意海绵状脑病（TSE）的传染。虽然 10^8 的系数已经足够，但整个生产过程是在 10^{21} 系数的感染物减少的情况下验证的。上市处方药（Alveract）考虑到海绵状脑病和病毒的安全性，它同样包括有关肺气体交换的肺表面活性物的所有相关成分[43]。

4. 透皮贴片

为了达到全身效果药物经皮透入，需要对角质层及下面的活性组织有较高的渗透性，并且在药物低剂量服用时也要有高药效。另外，如果药物生物半衰期较短，开发控释透皮系统是一个良好的选择。

透皮贴片是高科技的装置，包含药物储库，药物可从中控制释放（零级动力学）。控制因素是膜或骨架，膜控贴片率先进入市场。这种制剂的主要缺点是在处理时膜被损坏就会发生剂量冲击（dose dumping）。为了确保所期望的药物控释，有人研究了液晶多聚物在膜控透皮贴片中的应用[46]。骨架控释的透皮贴片仅有一种功能性组件，即多孔渗透的骨架。它不但能控制药物释放，同时也能作为药物储库和黏附性成分。

透皮贴片在全世界范围内都有上市，包括药物三硝酸甘油酯、雌二醇、睾酮、可乐定、东莨菪碱、芬太尼和烟碱。贴片在合适的身体部位可以保持一个星期。在这种情况下，储库中的药物量相当高。作为片层状微结构的液晶载体具有很高的增溶性能，尽管片层状液晶的高浓度表面活性剂可能会对皮肤有一些刺激，它们仍然被推荐作为透皮贴片的储库[47]。尤其是在膜控贴片中，液晶载体不直接与皮肤接触，因此不会对皮肤造成刺激。

5. 固体剂型、半固体剂型和液体剂型中的药物缓释

慢性疾病的治疗需要重复给药。生物半衰期较短的药物每天需要多次给药，时间间隔也短。为了减少服药次数，人们开发了缓释剂型。此时，使用液晶辅料就比较合适，因为与溶液等液体载体相比，液晶载体对药物的扩散要减少 10～1000 倍[48~50]。减少的倍数的多少取决于所用液晶的种类。

5.1 固体剂型

缓释的固体剂型可能以液晶原多聚体作为辅料。液晶

Y

原多聚体形成骨架，通常压制成片。缓释骨架应用最多的辅料有纤维素衍生物，将其逐渐溶解在水中时它会表现出液向性液晶的性质。与水作用时，羟丙纤维素或羟丙甲纤维素会形成胶状液向性液晶态[51]，在这种情况下扩散非常缓慢。液晶相不断用水稀释后会转化成高黏度浆液，然后成为胶体多聚物溶液。

5.2 半固体剂型

将药物溶解在单相液晶载体中会形成半固体剂型，它主要应用于局部给药（见表面活性剂凝胶和经皮贴片部分）。

5.3 液体剂型

乳剂或混悬剂这种分散体系统的缓释可以通过在界面处吸附合适的液晶原分子来达到。药物或形成内相，或包含在分散相中，所以它不能轻易透过液晶的界面，因此缓慢扩散进入连续相，进而通过作用部位进入组织。在多层液晶的界面，药物缓释尤为明显。

还有一种可能性是在作用部位与体液发生作用形成液晶。所用的药物溶液与如血浆、泪液、流体、皮肤脂质等体液作用，经过相转变形成液晶的单相或多相系统（图15）。例如，磷脂的反胶束油溶液，可以增溶任何添加的药物，在黏膜处吸收水分可以转变成液晶片层相。药物的释放由液晶来进行控制，因为液晶相中扩散是最慢的，所以能控制速率[50]。这个原理可以应用于眼部给药、鼻腔给药、口腔给药、直肠给药、阴道给药，甚至是非胃肠道给药[52]。但是，给药时，不推荐这种反胶束溶液的直接给药或将其包裹在软明胶胶囊中[53]，因为缓释效果会受到个体消化差异的限制，像胃液的量和组成，还有其肠道吸收的乳化和溶解能力。

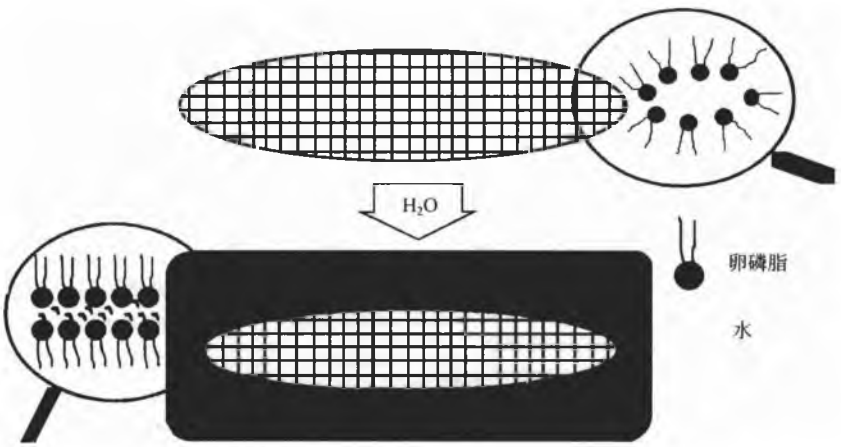


图15 应用后与水接触引起反胶束溶液转为液晶[10]

对于感染树脂囊的牙周炎（paradontitis）的治疗，甲硝唑的化学疗法是有效的。晶体前体药物安息香酸甲硝唑通过溶解与水解提供了活性成分甲硝唑，并混悬在油凝胶中（elyzol dentalgel）。油凝胶由单油酸甘油酯和芝麻油组成，固定在表面活性剂的骨架结构中。在体温时基质熔融，并均匀分散在树脂囊的内表面。熔融系统吸收水转化成反六边形相，这种液晶结构具有高黏度，最后形成的系统能很好地黏附在黏膜表面并缓慢地释放活性成分[10]。

6. 化妆品中的液晶

化妆品中的液晶主要是起到装饰性的作用。胆甾醇型液晶由于其彩色效应尤其适合使用，它可以应用于指甲油、眼影和唇膏。这些热向性液晶的结构随着体温的变化，可以产生所需要的颜色。最近，护肤品也包含了热向性的胆甾醇型液晶，它们分散在水凝胶中。根据这种水凝胶中的分散是否涉及搅拌或经过特殊喷雾，彩色的液晶颗粒可以均匀分布在胶体中（este'e lauder time zone moisture recharging complex）或局部集中（vichy restructure contour des yeux）来得到所需的剂型。对于液晶成分的化妆品效能测试还没有发表。

参考文献

1. Kelker, H.; Hatz, R. Handbook of Liquid Crystals. Verlag Chemie; Weinheim, Germany, 1980.
2. Müller-Goymann, C.C. Flüssigkristalline Systeme in der Pharmazeutischen Technologie. PZ Prisma 1998, 5, 129—140.
3. Reinitzer, F. Beiträge zur Kenntnis des Cholesterins. Monatsh. Chem. 1888, 9, 412—441.
4. Lehmann, O. Über fließende Kristalle. Z. Physikal. Chem. 1889, 4, 462—471.
5. Demus, D.; Richter, L. Textures of Liquid Crystals; Chemie; Weinheim, Germany, 1978.
6. Eidenschenk, R. Flüssige Kristalle. Chem. Unserer Zeit 1978, 18, 168—176.
7. The Physical Chemistry of Membranes; Silver, B., Ed.; Allen Unwin Inc. & Solomon Press; Winchester, USA, 1985.
8. Brown, G. H.; Wolker, J. J. Liquid Crystals and Biologi-

cal Structures; Academic Press: New York, 1979.
9. Friberg, S. E. Food Emulsions; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1976.
10. Müller-Goymann, C. C. Anwendung lyotroper Flüssigkristalle in Pharmazie und Medizin. Lyotrope Flüssigkristalle: Grundlagen, Entwicklung, Anwendung; Stegemeyer, H., Ed.; Steinkopff Verlag: Darmstadt, Germany, 1999; 141—167.
11. Larsson, K. Structure of Isotropic Phases in Lipid-Water Systems. Chem. Phys. Lipids 1972, 9, 181—195.
12. Tiddy, G. J. T. Surfactant-Water Liquid Crystal Phases. Phys. Rep. 1980, 57, 1—46.
13. Gregoriadis, G. Liposome Technology; CRC Press Inc.: Boca Raton, USA, 1993; I—III.
14. Lill, N.; Krempel, H. Liposomen in Pharmazie und Kosmetik Teil 1. Struktur und Herstellungsverfahren. PZ Prisma 1996, 3, 262—267.
15. Blumstein, A., Ed. Liquid Crystalline Order in Polymers; Academic Press: New York, 1978.
16. Cifferi, A., Kriegbaum, W. R., Meyer, R. B., Eds. Polymer Liquid Crystals; Academic Press: New York, 1982.
17. Müller-Goymann, C. C. Flüssigkristalline Arzneimittel. Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 2. erw. Auflage; Müller, R. H., Hildebrand, G. E., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsges: mbH: Stuttgart, Germany, 1998; 219—242.
18. Heering, W. Die Struktur des Gelgerüsts der Wasserhaltigen Hydrophilen Salbe DAB 8-Anwendung der Gefrierbruchätztechnik und TEM auf kolloide pharmazeutische Zubereitungen; Thesis Technische Universität: Braunschweig Germany, 1985.
19. Müeller-Goymann, C. Liquid Crystals in Emulsions, Creams and Gels, Containing Ethoxylated Sterols as Surfactant. Pharm. Res. 1984, 1, 154—158.
20. Schuetze, W.; Mueller-Goymann, C. C. Mutual Interactions between Nonionic Surfactants and Gelatin—Investigations in Cubic Liquid Crystalline Systems and Micellar Systems. Colloid Polym. Sci. 1992, 269, 85—90.
21. Usselmann, B. Beitrag zur Strukturaufklärung topischer Zubereitungen mit Fettalkoholpolyethylenglykolethern und Cholesterol als Tensiden; Thesis Technische Universität: Braunschweig, Germany, 1987.
22. Schütze, W. Diffuse Röntgenkleinwinkelstreuung an kolloidalen Drug Delivery Systemen; Thesis Technische Universität: Braunschweig Germany, 1998.
23. Fontell, K. X-ray Diffraction by Liquid Crystals-Amphiphilic Systems. Liquid Crystals and Plastic Crystals; Gray, G., Winsor, P., Eds.; Ellis Horwood: Chichester, 1974; 2.
24. Luzzati, V.; Mustacchi, H.; Skoulios, A.; Husson, F. La Structure des Colloides d'association. I. Les phases liquide-Cristalline des Systemes Amphiphile-eau. Acta Cryst. 1960, 13, 660—677.
25. Fontell, K.; Mandell, I.; Ekwall, P. Some Isotropic Mesophases in Systems Containing Amphiphilic Compounds. Acta Chem. Scand. 1968, 22, 3209.
26. Shin, S.; Kumar, S.; Finotello, D.; Keast, S.; Neubert, M. High-Precision Heat Capacity Study of Phase Transitions in a Lyotropic Liquid Crystal. J. Am. Phys. Soc. 1992, 45, 8683—8692.
27. Roux, D.; Nallet, F.; Diat, O. Rheology of Lyotropic Lamellar Phases. Europhys. Lett. 1993, 24, 53—58.
28. Kohler, H.; Strnad, J. Evaluation of Viscosity Measurements of Dilute Solutions of Ionic Surfactants Forming Rod-shaped Micelles. J. Phys. Chem. 1990, 94, 7628—7634.
29. Müller, B. W.; Müller, R. H. Bestimmung von mittleren Durchmessern und Größenverteilungen an Teilchen im submikroskopischen Bereich mit der Photonenkorrelationsspektroskopie. Pharm. Ind 1983, 45, 1150—1153.
30. Freundlich, H.; Stern, R.; Zocher, H. The Colloidal Chemistry of Arsphenamine and Neoarsphenamine. Biochem. Z. 1923, 138, 307—317.
31. Hartshorne, N. H.; Woodart, G. D. Mesomorphism in the System Disodium Chromoglycate-Water. Mol. Cryst. Liq. Cryst. 1973, 23, 343—368.
32. Mlodozeniec, A. R. Thermodynamics and Physical Properties of a Lyotropic Mesophase (Liquid Crystal) and Micellar Solution of an Ionic Amphiphile. J. Soc. Cosmet. Chem. 1978, 28, 659—683.
33. Eckert, T.; Fischer, W. Organic Salts of Flufenaminic Acid: A New Class of Materials Forming Lyotropic Mesophases in Aqueous Systems. 1. Electron Microscopic Study. Colloid Polym. Sci. 1981, 259, 553—560.
34. Hamann, H.-J.; Mueller-Goymann, C. C. Lyotroper Mesomorphismus von Arzneistoffmolekülen Unter Besonderer Berücksichtigung der Profene. Acta Pharm. Technol. 1987, 33, 67—73.
35. Powell, M. F.; Sanders, L. M.; Rogerson, A.; Si, V. Parenteral Peptide Formulations: Chemical and Physical Properties of Native Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LH-RH) and Hydrophobic Analogs in Aqueous Solution. Pharm. Res. 1991, 8, 1258—1263.
36. Kriwet, K.; Mueller-Goymann, C. C. Binary Diclofenac Diethylamine Water Systems: Micelles, Vesicles and Lyotropic Liquid Crystals. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1993, 39, 234—238.
37. Rades, T.; Padmadisastra, Y.; Mueller-Goymann,

Y

C. C. Thermal Behaviour and Solubility of Fenoprofen Calcium. Pharmazie 1996, 51, 846—851.

38. Müeller-Goymann, C. Liquid Crystals in Emulsions, Creams and Gels, Containing Ethoxylated Sterols as Surfactant. Pharm. Res. 1984, 1, 154—158.
39. Stoye, I. Permeabilitätsveränderung von humanem Stratum corneum nach Applikation nicht-steroidaler Antirheumatika in verschiedenen kolloidalen Trägersystemen; Thesis TU: Braunschweig, 1997.
40. Führer, C.; Junginger, H.; Friberg, S. Structural Studies of Ointments. Part 1: X-ray Structure Studies on the Hydrophilic Ointment DAB 7. J. Soc. Cosmet. Chem. 1978, 29, 703—716.
41. Müller-Goymann, C. Halbfeste Emulsionsähnliche Zustände. Seifen, Öle, Fette, Wachse. 1984, 110, 395—400.
42. Krempel, H.; Lill, N. Liposomen in Pharmazie und Kosmetik, Teil 2: Anwendungen und Wirkungen. PZ Prisma. 1997, 4, 46—54.
43. Schubert, R. Liposomen in Arzneimitteln. Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 2. erw. Auflage; Müller, R. H., Hildebrand, G. E., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsges: mbH: Stuttgart, Germany, 1998; 219—242.
44. Müller-Goymann, C.; Schütze, W. Mehrschichtige Phasengrenzen in Emulsionen. Dtsch. Apoth. Ztg. 1990, 130, 561—562.
45. Rades, T.; Gerke, A.; Schütze, W.; Müller-Goymann, C. C. Characterization of a Commercial Liposome Spray. Pharmazie 1997, 52, 44—50.
46. Euschen, A. Diffusion in flüssigkristallinen Silastomerenein Beitrag zur Kontrolle der Arzneistofffreisetzung durch Diffusion; Thesis Universität des Saarlandes: Saarbrücken, Germany, 1986.
47. Tiemessen, H. L. G. M. Nonionic Surfactant Systems for Transdermal Drug Delivery; Thesis Leiden University: The Netherlands, 1989.
48. Wahlgren, S.; Lindstrom, A. L.; Friberg, S. Liquid Crystals as a Potential Ointment Vehicle. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1484—1486.
49. Müeller-Goymann, C. C.; Frank, S. G. Interaction of Lidocaine and Lidocaine-Hydrochloride with the Liquid Crystal Structure of Topical Preparations. Int. J. Pharm. 1986, 29, 147—159.
50. Müeller-Goymann, C. C.; Hamann, H.-J. Sustained Release from Reverse Micellar Solutions by Phase Transformation into Lamellar Liquid Crystals. J. Contr. Release 1993, 23, 165—174.
51. Gray, D. G. Liquid Crystalline Cellulose Derivatives. J. Appl. Polym. Sci.: Appl. Polym. Symp. 1983, 37, 179—192.
52. Schneeweis, A.; Mueller-Goymann, C. C. In Vivo and In Vitro Diclofenac Sodium Evaluation after Rectal Application of Soft Gelatine Capsules Enabling Application Induced Transformation (AIT) into a Semisolid System of Liquid Crystals (SSLC) for Controlled Release. Pharm. Res. 1997, 14, 1726—1729.
53. Schneeweis, A.; Papantoniou, I.; Mueller-Goymann, C. C. Diclofenac Sodium Plasma Concentrations in Dogs after Peroral Application of Soft Gelatine Capsules Enabling Application Induced Transformation (AIT) into a Semisolid System of Liquid Crystals (SSLC) Compared to In Vitro Drug Release. Pharm. Pharmacol. Lett. 1997, 7, 42—44.

（裘 渊 译）

药物相互作用

Y

Daniel A. Hussar
University of the Sciences in Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, U. S. A.

药物相互作用

术语“药物相互作用”最常用于一种药物的作用被另一种同时使用的药物改变的情况（药-药相互作用），以及营养物的作用对药物有影响或反之（药-营养物质-食物相互作用）的情况。药物相互作用的概念也延伸到药物引起实验室检验结果的改变（药-实验室检验相互作用）以及药物对处于一定病理状态的患者产生所不希望见到的影响（药-疾病相互作用）。

药物相互作用的结果

药物相互作用最重要的结果之一就是引起一种或多种正在使用的药物发生过量反应。例如，像地高辛（如 Lanoxin）和华法林（如 Coumadin）合用药物作用显著升高能导致严重的并发症，合用后引起中枢神经系统抑制的危害也是众所周知的。那些导致药物活性降低甚至无效的药物相互作用不但已经被认识到，而且也非常重要。药物相互作用非常难以察觉出来，因为这些作用可能会被误以为是治疗无效或疾病恶化。

尽管某些药物相互作用的发展是出乎预料的和不可预测的，但是其他与已知药物药效学和药代动力学特性有关的药物相互作用是可以预料的。不过考虑到在多组分药物中每种成分的数量和药理作用的差异，要预测任何给定药物的作用强度是非常困难的。这些情况说明，不但需要保留完整的和现在的患者用药记录，而且还要求更严密地监督和管理药物治疗过程，以便预防或早期发现问题。

在增加对上述问题观察次数和研究的基础上，关注药物相互作用和采取合适的预防措施是合理的。不过，随时观察药物相互作用的发生也是非常重要的。在评价和使用可利用的信息、避免潜在的问题过度发生的过程中，谨慎是必需的。虽然可以考虑替代疗法和（或）逐步增加更多密切监督的配合治疗，但是患者不必抛弃对他们有利的治疗。如果要达到最佳的治疗效果，恰当的临床观察必须要做。

有时候，处方中的第二个药特意是为了改变第一个药的作用。这个方法可能是为了提高前一个药的作用或降低其不良反应。在这种情况下，药物疗效和（或）安全性提高了，这也说明药物相互作用并不总是有害的，也可以是有利的。

引起药物相互作用的原因

许多原因都能引起药物相互作用，这里将讨论最重要的因素。

1. 多重药理作用

在现在的治疗中，大多数药物都呈现不止一种药理作用，有能力影响多种生理系统。因此，两种药合用经常会影响某些相同的系统。在考虑可能的药物相互作用时，往往倾向于将焦点集中在药物的主要作用而忽略其次要作用。例如，某些患者合用吩噻嗪类抗精神病药，如氯丙嗪、三环类抗抑郁药如阿米替林和抗帕金森病药物如苯海索。每一种药都有明显不同的主要作用，然而，这三种药都有抗胆碱活性。即使任何一种药的抗胆碱作用较弱，但三种药的加合作用却非常明显。

2. 多个处方医师

一些患者去看不止一个医生，通常除了家庭医生，一个患者接受一个或更多的专科医生的治疗。某些患者也可能去看其他健康专家（如牙医、足医等），每个专家都可以开处方。对于一个特定的患者，一个医生通常很难知道其他医生已开的所有药，这种情况增加了许多用药困难。例如，一个医生给患者开了有镇静作用的抗组胺药，另一个医生开了抗焦虑药，这就可能产生过度的抑郁作用。即使一个患者看不同的医生，他将在同一个药房调剂药品。因此，药师通过检查患者的用药记录，可以在药物相关问题的发现和预防上起着重要作用。

3. 与非处方药合用

有许多药物相互作用的报道，包括非处方药（如阿司匹林、抗组胺药、抗酸剂等）与处方药合用。当医生询问患者正在使用的药物时，患者常常忽略了提及非处方药。许多患者长期服用抗酸剂、轻泻药、止痛药和维生素，按照常规的思维方式，他们不认为这些是药品。在询问患者时，这些信息经常被遗漏。有些医生和药师从患者那里获取这些信息时喜欢使用一个列举症状的清单，这些症状通常可以用非处方药治疗。

药物相互作用也可能是由两个或多个合用的非处方药引起的。在有些情况下，两个非处方药有不同的治疗目的，但含有相同的活性成分，增加了药物过量反应的危险性。苯海拉明，因其具有的抗组胺作用，在很多药物中含有，同时也因其具有的镇静作用，在非处方的睡眠辅助剂中存

在。患者通常不知道自己在不同情况下购买的药品会含有相同的活性成分。因为非处方药不需要处方，患者确信他们使用的药品是安全的，这种情况让使用者对于药物相互作用的危险增加。

关于非处方药潜在的药物相互作用的研究也包括草药的使用、食品添加剂和其他相关的非处方产品。虽然对这些产品的特性仍然要研究，但是与处方药发生相互作用的可能性出现很多。因此，应该询问患者是否正在使用这类产品。

4. 患者的非依从性

由于各种原因，许多患者不按医嘱服药。有些患者没有从处方医生和药师那里得到足够的指导，如何时及如何服药。另一些情况，尤其是服好几种药的患者，起初明白，后来就混淆了。对于老年人，他们可能在一天的不同时间分几次服5种或6种药，可能会弄错或忘了服药。尽管这种情况对于这类人群不是个别现象，但是可以理解的。

有时候，患者不依从是他们没有服足量的药。另一种情况是，服用过量而发生药物相互作用。例如，有些患者想起来上次忘吃药了，而在这次加倍服用；另一些患者自认为一片的处方量仅部分而不是完全缓解症状，那么服两片就会更有效。

药物相互作用的机制

了解药物相互作用形成的机制对于预知和解决其发生、发展是有价值的。虽然有关药物相互作用形成的详情是复杂的，人们了解得很少，但是很多药物相互作用发生的机制有文献资料记载，与药物对机体作用及机体对药物作用的基本过程有关。

这些作用机制一般统一归为药效学或药动学机制。药效学相互作用是指同时给予那些有相似（或相反）药理作用的药物，受体或组织对一个药物的敏感性或效应被另一个药物改变的情况。在这种情况下，药物作用改变而药物血浆浓度未改变。药动学相互作用是指一种药物（称作“沉淀剂药”）改变第二种药物的药物（目标药）吸收、分布、代谢或排泄（ADME），其结果是后者血浆浓度发生改变。某些药物相互作用发展可能包含几种作用机制。

1. 药效学相互作用

虽然药动学相互作用已经被更广泛地研究和认识，但是药效学相互作用非常普遍，也是现在对临床具有机战性的问题。现讨论某些引起药效学相互作用的原因。

1.1 具有相反药理作用的药物

由两种具有相反作用的药物引起的药物相互作用是最容易被发现的。不过，相反药理作用有时由某些药物的继发作用而引起，这种或其他因素有可能妨碍对这类药物相互作用的早期鉴别。

利尿药：噻嗪类和其他的利尿剂可以升高血糖浓度。当给正使用胰岛素或口服其他降糖药的糖尿病患者开利尿药时，该作用可能会部分抵消降糖药的降血糖作用，需要调整剂量。同样，许多利尿药会产生高尿酸血症的作用。因此，治疗痛风患者时应该密切监控，由于利尿药引起高尿酸血症的作用，因而调整痛风患者的药物剂量是必要的。

1.2 具有相似药理作用的药物

药效学相互作用最常见的类型是同时使用具有相似药理作用的药物引起药物过量反应。这些潜在的问题应该特别注意。

中枢神经系统（CNS）抑制剂：由于同时服用两种或更多种具有抑制作用的药物而引起中枢神经系统过度抑制是药物危害的典型代表之一。年龄越大的患者对此类反应越敏感，经历了类似疲劳和头晕的患者跌倒和损伤危险性升高，如髋骨骨折。也必须忠告开机动车和操作机械的危险性。考虑到多种药物成分，处方医生需要认识到大量可能存在抑制作用的药物（如抗焦虑药、催眠药、抗精神病药、三环抗抑郁药、某些镇痛药和大多数抗组胺药）。应该考虑是否有必要所有药物同时服用，具有抑制作用的药物剂量应该适当地降低。

酒精和其他中枢神经系统抑制剂：大多数使用镇静剂的患者，在饮用含酒精的饮料后，出现中枢神经系统抑制作用增强，这是众所周知的相互作用。然而，这种相互作用在预测效应强度方面显示出了困难，因为该效应依赖许多变量，包括患者对酒精的耐受力。每个患者都应该对酒精会引起镇静剂抑制作用增强保持警惕。应该力劝不能完全避免饮用酒精饮料的患者注意饮用适度，特别是在治疗初期，合用时要特别注意观察他们自身的耐受力。然而，应该记住，尽管许多人能够服用镇静剂同时饮用相对大量的酒精饮料，没有出现明显障碍，但这种合用还是可能产生某些致命影响或引起其他损伤。因此，所有服用这些药物的患者需要被警告，这些药存在潜在的相互作用。

具有抗胆碱活性的药物：如前所述，主要药理作用相差相当大的药物可能会呈现相同的继发作用。一些使用抗精神病药，如氯丙嗪的患者，再给予抗帕金森病的药物，如苯海索来控制前者的锥体外系反应。另外，许多患者伴有抑郁症状，可能要加上三环类抗抑郁药，如阿米替林进行治疗。这三种药都有抗胆碱活性，这种叠加会产生副作用，如口干、视力模糊、尿潴留、便秘和眼内压升高。

健康专家可能认为诸如口干之类的副作用是不严重的，但是这些副作用却使某些患者特别烦恼。例如，持续性口干使假牙使用更加困难，能引起其他牙齿并发症。咀嚼和吞咽困难的增加可能会使某些老年患者出现营养不良。

口干还可能引起其他问题。例如，三环类抗抑郁药丙咪嗪能够引起持续性口干。如果舌下含服硝酸甘油片用于治疗劳累型心绞痛，由于舌下溶解较慢可能会延迟症状的缓解。

过度的抗胆碱作用能够引起阿托品样谵妄，特别是老

年患者。这种作用能被误认为是精神病症状加重从而提高治疗这些症状的药物剂量。这个例子说明，区别需要治疗的疾病的症状还是药物作用引起的反应是困难的。其他与具有抗胆碱活性的药物有关的潜在问题包括记忆损伤和自理能力损伤。

据报道，同时服用吩噻嗪和抗帕金森病药物的患者在高温和高湿的环境中会发生严重高热。这种合用会干扰机体的体温调节系统，在热天和高湿气候治疗患者时，应该减少接受高剂量治疗患者的户外活动。

显示降压作用的药物：某些降压药，也包括一些其他类药物（如三环类抗抑郁药）能够引起体位性低血压，会导致头昏、头晕，更严重的甚至晕厥。老年患者更易产生这种反应，有更高的相关的危险性，如跌倒和损伤。无论单独应用还是合用这些药物都应该适当预防。

非甾体类抗炎药（NSAIDS）：有时候，患者可能不知不觉地服用含有相同的非甾体类抗炎药的不同药品。一个按处方使用布洛芬治疗关节炎的患者［通常使用剂量是（或）接近推荐的最大剂量］，也可能自己购买治疗与关节炎无关的其他疼痛含有布洛芬的非处方药。这个患者不知道，两个产品含有相同的成分，这样就使发生不良反应的危险性增加了。

1.3 电解质浓度的改变

一些重要的药物相互作用发生是由于治疗药物改变了电解质的浓度，如钾和钠。当治疗方案中有这些药物时，定时监测电解质浓度是非常重要的。

地高辛和利尿药：与利尿剂（如噻嗪类：呋噻米）的使用相关的问题之一是钾的大量流失。地高辛治疗患者中许多也是利尿药的使用者，特别注意钾流失非常必要。如果钾的缺乏不能被纠正，心脏对地高辛作用更敏感，可能会引起心律失常。

尽管对于某些排钾利尿药治疗的患者补钾是必要的，但是在这类利尿药使用的初期，补钾并不作为一种常规治疗。这种判断是基于考虑患者的个体情况，以及应该周期性监测合适的参数。必须认识到，如果过量地补钾会造成高钾血症的危险。尽管肾脏通常能够迅速排出过量的钾，高钾血症还是可能会发生，尤其是肾功能障碍的患者。

除了利尿药，其他药也可能会引起钾缺乏。虽然失钾程度或速度不可能像利尿药那么快，泻药和皮质激素的延长使用也能够引起失钾。

锂和利尿药：众所周知，低钠症会增加锂的毒性，一般建议锂不用于使用利尿药或限制钠摄入的患者。甚至持续出汗或腹泻引起大量失钠也能降低对锂的耐受。利尿药引起低钠症，降低了肾清除率，提高了锂的活性。不过，如果没有更好的替代疗法，只要认识到存在的药物相互作用，适时监督治疗并调整剂量，也不必禁止合用。

1.4 在受体位点的相互作用

发生在受体位点的药物相互作用的例子包括单胺氧化酶抑制剂异卡波肼、苯乙肼、反苯环丙胺和丙卡巴肼。

单胺氧化酶抑制剂和拟交感神经药：单胺氧化酶能分解儿茶酚胺类物质，如去甲肾上腺素。当这些酶被抑制时，肾上腺素能神经元内去甲肾上腺素浓度会升高，刺激它释放的药物能引起更大的效应。单胺氧化酶抑制剂和间接拟交感神经胺作用药物（如苯丙胺）之间相互作用的形成就是这种机制。如果患者由于单胺氧化酶抑制而使去甲肾上腺素的储存升高，再使用苯丙胺，患者可能会出现严重的头痛、高血压（可能出现高血压危象）和心律失常。和这些相互作用有关的严重后果显示合用这些药是不当的。

大多数拟交感神经胺，如苯丙胺，只能通过处方使用；其他的如苯福林和伪麻黄碱是常见的治疗感冒和抗过敏的非处方药，据报道也会与单胺氧化酶抑制剂发生同样的相互作用。使用单胺氧化酶治疗的患者避免使用这些药物是非常重要的。

单胺氧化酶抑制剂和其他抗抑郁药：药品说明书和病例报道都提出警告，禁止单胺氧化酶抑制剂与三环类抗抑郁药（如阿米替林、丙咪嗪）合用，因为会发生严重的阿托品样反应震颤、惊厥、低体温和血管萎缩。在这些药品标签上大多数会警告单胺氧化酶抑制剂或三环类抗抑郁药应该至少停用其他药 7～14 天后，才能开始使用。

虽然大多数单胺氧化酶抑制剂和三环类抗抑郁药说明书都警告二者禁止合用，但是对其危险程度意见仍不一致。一些研究显示其相互作用证据较少。有印象显示严重的相互作用不常见。有报告显示，挑选出对这些成分单独使用未有反应的患者联合使用这些药物产生了良好的结果。结合以上两种情况得出一些结论，这些药物的合用可以谨慎使用。对于单独使用抗抑郁药不显疗效及没有其他方案治疗的患者，合用的潜在益处可能会超过其危险性。不过，这样的治疗应该由那些非常熟悉这种风险的医生来承担，并且需要进行密切监督。

有关氟西汀（百忧解）和单胺氧化酶抑制剂合用的可用资料非常少，建议避免合用。单胺氧化酶抑制剂停用至少 14 天后才开始使用氟西汀。曾有报道说，氟西汀停用后很快就用单胺氧化酶抑制剂导致死亡的病例。由于氟西汀及其活性代谢物半衰期长，推荐氟西汀停用后至少 5 周才可以开始使用单胺氧化酶抑制剂。

2. 药代动力学相互作用

2.1 胃肠道吸收的改变

引起胃肠道吸收改变的药物相互作用可能是通过不同机制，其临床重要性也不同。在某些情况下，药物的吸收总量可能会降低，治疗活性也随之降低。在另一些情况下，吸收可能会延缓，但最终吸收的数量相同，如果需要药物快速起效来缓解急性症状，如疼痛时，吸收延迟就是不希望发生的。不过，在另一些情况下，药物吸收延迟并没有明显的临床意义，一般是药物作用缓慢，但是已经达到体内治疗浓度。一般规律是，那些正常情况下不能完全吸收

的药物，对胃肠道吸收的改变最敏感。

酮康唑和抗酸剂：酮康唑口服后，需要酸性介质才能完全溶解。因此，抗酸剂包括组胺 H2 受体拮抗剂，如西咪替丁、雷尼替丁，或质子泵抑制剂如兰索拉唑、奥美拉唑，可能会降低抗真菌药的溶出、吸收和药理作用。抗酸剂至少应在口服酮康唑 2h 后才能服用。最好避免酮康唑与组胺 H2 受体拮抗剂或质子泵抑制剂合用，应该考虑其他相互作用可能较小的药物。

四环素类和金属制剂：四环素能够与金属离子，如钙、镁、铝和铁离子结合，在胃肠道中形成络合物而很难吸收。这样，服用四环素的患者同时给予某些药物（如抗酸剂、铁制剂、含钙盐的产品），会使四环素的吸收量显著降低。如果发现两种药有潜在的相互作用，有时倾向于认为其中一种药应该停用。至于四环素和抗酸剂的相互作用，通常应单独服用，中间至少间隔 1h，可避免发生相互作用。

氟喹诺酮类和金属制剂：含有铝和镁的抗酸剂及含有其他金属离子（如铁）的制剂，能显著降低氟喹诺酮类衍生物如环丙沙星的吸收和血清药物浓度，可能是由于金属离子和抗感染药络合的结果。抗酸剂或其他含金属的药不能与氟喹诺酮同时服用，大多数氟喹诺酮产品说明书都标明分别服用至少应间隔的时间。例如，推荐莫西沙星（拜复乐）至少在抗酸剂或其他金属制剂服用前 4h 或服用后8h 才能服用。

消胆胺和考来替泊：其他预见的药物相互作用包括考来烯胺和考来替泊使用时可能发生络合作用。这些树脂材料在胃肠道内不能吸收，但可与胆酸结合，阻止胆酸重吸收。另外，考来烯胺和考来替泊可能与胃肠道内的药物（如地高辛和华法林）结合。为了减小这种相互作用的可能性，考来烯胺或考来替泊与其他药的服药间隔应尽可能长。

这种相互作用有意义的应用是来氟米特治疗类风湿性关节炎。怀孕期间服用来氟米特，可能会伤害胎儿，来氟米特有一种活性代谢产物在体内至少可存在两年。即使孕妇可能已停用来氟米特，仍推荐服用考来烯胺（8g，每天三次，服用 11 天）以加速该药及其活性代谢产物的消除。

食物：食物能够影响药物的吸收和活性。在某些情况下，吸收只是延迟而没有减少，然而另一些情况是药物吸收的总量减少了。食物影响药物吸收的作用经常是由于减慢胃排空引起的。不过，食物也可能是与药物结合影响了药物吸收，降低了固体药物制剂溶解速度或改变胃肠道内容物的 pH。

胃肠道内的食物能降低许多抗感染药的吸收。尽管也有例外（如青霉素 V、阿莫西林和强力霉素），一般推荐青霉素和四环素衍生物以及一些其他的抗感染药至少在饭前 1h或饭后 2h 服用，以达到最佳吸收。

阿仑膦酸盐和食物：食物和某些饮料（如橘子汁、咖啡和矿泉水）可以显著降低阿仑膦酸盐的生物利用度。因此，该药应该在第一餐食物、饮料或当天要服用的其他药物前至少 30min 服用，仅仅用白开水送服即可。

阿卡波糖或米格列醇与食物：有些药需要与食物一起服用才能达到最佳疗效。阿卡波糖和米格列醇与食物一起服用治疗糖尿病更有效，因为它们能延迟碳水化合物的摄入，降低餐后血糖的升高。要达到最大疗效，应该在每餐开始时（与第一口食物同时）服药。

单胺氧化酶抑制剂和酪胺：据报道，单胺氧化酶抑制剂跟在富含加压物质，如酪胺的食物后服药会发生严重的不良反应（如血压危象）。

酪胺被单胺氧化酶代谢，在正常情况下，存在于肠壁和肝脏的这些酶，对抗食物中胺类的加压作用。然而，当这些酶被抑制时，未代谢的酪胺大量蓄积，促使肾上腺能神经元释放去甲肾上腺素，而由于单胺氧化酶被抑制，肾上腺能神经元中储存的儿茶酚胺浓度也比平常更高。酪胺含量最高的食物有熟乳酪（如 cheddar）、某些酒精饮料（如基安堤）、腌醉鱼（如青鱼）、浓缩酵母提取物和蚕豆荚（也称蚕豆或意大利绿豆）。

销售单胺氧化酶抑制剂的制药公司已经列出了服用这些药物时避免食用的食物清单。这个信息应该提供并详细描述给每一个服用单胺氧化酶抑制剂的患者。

葡萄柚汁：据报道，葡萄柚汁可以提高许多药物的血清药物浓度和活性，如某些钙通道阻滞药如非洛地平和尼索地平、某些 HMG-CoA 还原酶抑制剂如洛伐他汀和环孢菌素。这些药物大部分生物利用度很低，主要是存在首过效应。葡萄柚汁中的成分可能降低了肠壁内这些药物的代谢酶细胞色素 P450 酶（主要是 CYP3A4）的活性。结果，大量未被代谢的药物被吸收，血清药物浓度升高。

2.2 分布改变

当同时给予两种有蛋白结合能力的药物时，一种药物替换了另一种药物的位置，会发生改变药物分布的相互作用。最明显的情况是两种药物与蛋白结合位点相同（竞争替换）。蛋白结合位点在数量上是有限的，与蛋白位点亲和力强的药物能够从血浆或组织中置换出另一种药物。体内与蛋白结合的药物没有药理活性。不过，结合型与未结合型药物存在着平衡，未结合的或称“游离型”的药物被代谢和消除，结合型药物逐渐释放以维持平衡和药理效应。

发生药物相互作用的危险最主要是那些蛋白结合率高（超过 90%）以及表观分布容积小的药物。通常，只有一小部分游离的药物是可用的，即使只有很小的一部分蛋白结合的药物被置换，也会产生相当高的活性。

甲氨蝶呤：甲氨蝶呤血浆蛋白结合率非常高，像水杨酸等药物，可以把它从结合位点置换下来。水杨酸也能通过抑制甲氨蝶呤的肾脏排泄来提高它的活性作用。使用水杨酸时，随时都应该警惕甲氨蝶呤潜在的毒性。

2.3 代谢促进作用

药物代谢主要发生在肝脏，一般主要包括氧化、还原、水解和结合反应。就数量来讲，最重要的肝药酶是细胞色素 P450 酶系，根据氨基酸序列的相似性分为不同家族和亚家族（如 CYP3A4）。这些酶负责大量药物的代谢。

许多药物相互作用的起因就是酶诱导作用：一种药物促进另一种药物代谢的能力，最常发生的是提高肝药酶的活性。酶诱导通常导致代谢和消除的加快，降低经肝酶代谢药物的作用。苯巴比妥（和其他巴比妥类）、苯妥英、卡马西平和利福平是最常见的酶诱导剂。

华法林和苯巴比妥：苯巴比妥有酶诱导作用，能加快华法林的代谢率。如果不能认识到这种相互作用，其结果会导致抗凝作用下降，血栓形成的危险性升高。

吸烟：雪茄烟中的稠环烃可以提高氧化酶的活性，其结果是，使某些治疗药物［如地西泮（valium）、丙氧酚（darvon）、茶碱、氯丙嗪和阿米替林）］代谢更快，使其作用降低。除了仔细监测中度或重度吸烟患者使用肝代谢药物的治疗作用，还必须警惕患者在使用这些药物时是否停止了吸烟。例如，用三环类抗抑郁药治疗一个重度吸烟患者，吸烟期间，由于酶诱导作用使药物作用下降，从而确定了一个合适的维持剂量。一旦停止吸烟，如果仍然使用该药，原来合适的剂量，现在可能就过量了，应该调低剂量。

2.4 代谢抑制作用

许多情况是一种药物抑制了另一种药物的代谢，其结果是延长和加强后者的活性。

巯嘌呤或硫唑嘌呤和别嘌醇：别嘌醇通过抑制黄嘌呤氧化酶降低尿酸的生成，这是其治疗痛风的基本原理。黄嘌呤氧化酶在某些有潜在毒性的药物，如巯嘌呤和硫唑嘌呤的代谢过程中起重要作用。当黄嘌呤氧化酶被别嘌醇抑制时，这些药物的作用显著增强，每天服用别嘌醇 300～600mg，并同时服用这些药物中的任何一种时，建议巯嘌呤或硫唑嘌呤降到常用量的 1/3～1/4。

西咪替丁：由于西咪替丁抑制某些代谢通路，可以预测增强经这些通路代谢的药物的作用。例如，西咪替丁可抑制地西泮和某些其他苯二氮䓬类药物的代谢，因为药物相互作用，这些药物的镇静作用增强。特别应该注意，老年患者对苯二氮䓬抑制作用的敏感性升高，甚至有时在单独应用时敏感性就很高。

劳拉西泮、奥沙西泮和替马西泮的代谢可能不易受影响，因此当西咪替丁治疗的患者需要使用某二氮䓬类时，可以选用其中之一。经验显示，雷米替丁、法莫替丁和尼扎替丁，可能不抑制肝药酶系统。和西咪替丁相比，这些组胺 H2 受体拮抗剂，与经由这些途径代谢的药物的相互作用可能要小得多。

大环内酯类抗生素：红霉素通过抑制肝代谢可明显升高药物如茶碱的血清浓度。克拉霉素（biaxin）和醋竹桃霉素以及许多药物相互作用显示出与红霉素的作用方式相似，而阿奇霉素（希舒美）不太可能与这些药物有相互作用。

氟喹诺酮类：环丙沙星和依诺沙星通过抑制肝代谢可明显升高药物如茶碱的血清浓度。其他的氟喹诺酮类，如左氧氟沙星可能不影响肝酶系统，与这些药物没有相互作用。

2.5 排泄的改变

许多药物及其代谢物经肾脏排泄。改变肾脏排泄最重要的临床意义是药物以原形排泄还是以活性代谢产物的形式排泄。这样，当肾脏排泄改变时，有药理活性的物质被更大程度地重吸收或排泄。

水杨酸盐：尿 pH 的改变会影响弱酸性药物（如水杨酸盐）及弱碱性药物（如苯丙胺）的离子化，由此也影响这些药物的重吸收和排泄的程度。当药物呈非离子型时，易于从尿液反方向扩散到血液。因此，酸性药物在酸性尿液中比在碱性尿液中的非离子型比例更多，而在碱性尿液中主要是以离子化盐的形式存在。结果，尿液酸化会导致水杨酸盐浓度升高，药物作用延长还可能增强。对于服用大剂量水杨酸盐（如关节炎）的患者出现这种显著药物相互作用的危险最大。

青霉素类和丙磺舒：许多有机酸是通过主动转运从血液进入肾小管，反之亦然。某些情况下，这些药物互相干扰它们的排泄。丙磺舒能够通过阻断肾小管分泌而升高青霉素类衍生物血清药物浓度，延长药物作用。这种相互作用已经被用于提高某些感染治疗的疗效。

甲氨蝶呤和非甾体抗炎药（NSAID）：据报道，NSAID 能增加甲氨蝶呤的活性和毒性，推测可能的机制是抑制后者肾小管主动分泌。其他机制可能是升高甲氨蝶呤血药浓度。据报道，许多接受大剂量甲氨蝶呤治疗肿瘤性疾病的患者都发生了这样的药物相互作用。不过，也应该警惕小剂量使用的患者可能也会发生这种情况。

地高辛和奎尼丁：研究指出，与奎尼丁合用时，地高辛血药浓度明显高于单独服用时。地高辛通过肾小管主动分泌，奎尼丁诱导血清地高辛浓度升高的主要原因是明显降低了地高辛的肾清除率。不过，奎尼丁也降低地高辛非肾清除率。

尽管随着药物相互作用的发展还有其他机制被发现，但是上述引用的观点是最重要的。某种药物相互作用超过一种作用机制，这些作用机制可能是一致的，也可能是相反的，共同决定了最后的结果。通过作用机制的研究还会发现其他药物相互作用。

减小药物相互作用的危险

要减小药物相互作用的危险需要考虑多方面因素。以下是降低和处理药物相互作用的指南。

（1）判断患者自身的危险因素：当第一次会诊时应该考虑患者的因素，像年龄、体质（如肾功能损伤）、饮食习惯、吸烟和一些其他问题，如酗酒会影响某些药物的作用。

（2）掌握患者全面的用药史，保持完整的用药记录：在改变治疗方案前，要掌握患者准确和完整的处方药及非处方药的使用记录。多数药物相互作用的产生是由于缺乏对其他医生所开处方药的认识，或者认为非处方药不重要而没有提及。通过掌握患者的用药记录，有利于药剂师发

现潜在的问题，采取必要的措施减小或避免药物相互作用的发生。

（3）掌握所使用药物的药效知识：要精确评价潜在的药物相互作用，掌握已经使用或即将使用的药物的特性、主要和次要药理作用的知识是非常必要的。

（4）考虑替换治疗药物：多数情况下，只要给予足够的警惕（如更频繁地进行治疗监测或调整剂量以弥补改变的作用），两种发生相互作用的药物也可以合用。但是，如果另外的成分有相似治疗作用且发生相互作用危险更小，则这种另外的成分应该被使用。

（5）如果有可能，避免复杂的治疗方案：药物使用的种类应该降到最少。另外，给药次数少的给药方案设计有助于避免药物相互作用，因为这样可以改变药物的吸收（例如，当非常接近进餐时服药）。

（6）教育患者：患者通常对其病情知之甚少，更不用说药物治疗方案的优劣。了解治疗方案的患者可能更遵守药物的说明书，更注意症状的发展，有助于早发现与药物相关的症状。患者应该被鼓励询问有关其治疗的问题，报告其额外的或意外的反应。对某些患者而言，如何用药最安全、更有效是不确定的。

（7）监视治疗：密切监视药物相互作用的危险性是有道理的，不但是因为可能会发生的药物相互作用，而且还因为个别成分发生的副作用及患者不依从性。患者行为的任何改变都应该被怀疑与药物有关，直到这种可能性被排除为止。

（8）个体化治疗：尽管上述指南中治疗方案的设计本来就是为满足个别患者的特殊需求，但是这种考虑不被足够重视。要充分认识到，患者对某种药物相同剂量的反应普遍存在差异。单独用药时，多数药物的反应是很难预测的。预测多药给药方案效应更具有挑战性和局限性。因此，要优先考虑的是患者个体需要和临床效果而不是推荐剂量、标准疗法和监视指南。

（9）把患者作为治疗的合作伙伴：除非患者和（或）其家人能够参与、理解和顺从相关的治疗方案，否则健康专家对患者康复的最大努力都不能达到预期的目标。只有每一个参与者在履行自己的职责时都发挥聪明才智和辛苦努力，才能以最小的风险带来最佳的治疗效果。

（10）推荐以下书目作为全面的参考，其中有关于药物相互作用的详细信息。

参考书目

Hansten, P. D.; Horn, J. R. Drug Interactions Analysis and Management; Facts and Comparisons: St. Louis, 2001.

Tatro, D. S. Drug Interaction Facts; Facts and Comparisons: St. Louis, 2001.

（高东雁　宋浩亮　译）

Y

药物信息系统

Linda Lisgarten
Michelle Wake
University of London, London, U. K.

引言

所有对药学学科感兴趣的人，为了他们自己的研究和课题，也为了能够与他们从事医疗工作的同事或患者进行交流，都需要及时、可靠的药物信息。在这一章中，我们将讨论通常可用的多种现代药学电子信息系统，并将介绍它们的主要用途和独特功能。

从19世纪60年代起，药学信息的数量有了大幅度提升。仅化合物数量一项就以巨大的速度增长。CAS注册数据库大约以每天4000种新物质的速度在增加。在信息大幅度增长的同时，数据的存储和传输技术得到了长足发展，正是这些技术把药学信息压缩成便于存储和交流的媒体形式。包括以往的方式，我们现在仍在使用纸、胶片、磁带、软盘、CD-ROM、DVD，当然还有互联网服务器。在过去的几年间，在国际互联网上堪称是出现了药学信息爆炸。

当然，除了单纯的数量之外，还有其他一些关于药物信息种类的特征和特性，这令你很难找到你所需要的信息。药物有多个名字，不同的国家叫法也不一样。例如，美国的对乙酰氨基酚（acetaminophen）的药物在英国被称为扑热息痛（paracetamol）。不同国家的注册程序不同，这也是一个问题。最近有非常出名的一个例子——伟哥（Viagra），在英国许可它上市之前数月美国即已上市。为了帮助人们了解命名法，不妨试一下CAS注册档案、默克索引、马丁德尔大药典或Pharmaprojects，后者对检索商品名和给出一种产品在不同的国家什么时候得到许可等信息非常有用。

背景

药物信息的来源有多种多样，包括期刊、书籍、会议记录、专利以及行业文献等。这些来源通常被划分为一次、二次和参考摘要/三次信息。“一次信息”是指原始的、新颖的信息；“二次信息”是指对一次信息的评论和注释，而“参考摘要”，或者称为“三次信息”则通常指一些汇编物，如字典、药典等。当查阅文献时，最明智的做法是先从参考摘要/三次信息开始查起，然后再查二次信息，直到最后查到药物信息的一次来源为止。

参考摘要

药典、摘要和处方集：

通过使用药典、药品摘要或处方集，人们可以很快地解答一些疑问。现在许多数据都有电子版的。

（1）药典

- 《美国药典/美国处方集》（http://www.usp.org）。
- 《英国药典》（http://www.pharmacopoeia.org.uk）。
- 《欧洲药典》（http://www.pheur.org）。

（2）药物概略

- 默克索引（http://www.merck.com/pubs）。
- 医师的案头参考（http://pdrbookstore.com）。
- 马丁德尔大药典（http://www.pharmpress.com）。
- 药物索引（Drugdex）（http://www.micromedex.com/products/drugdex）。
- 药物摘要(Medicines Compendin)(http://emc.vhn.net)。
- 药物项目（Pharmprojects)(http://www.pharmaprojects.co.uk)。

（3）处方集

- 美国药典DI，卷Ⅲ，批准的药品和法规要求(http://www.usp.org)。
- 英国国家处方集BNF（http://www.bnf.org）。

二次来源：索引和摘要

期刊通常收录一次和二次的最新的科学文献，新的生物医学杂志的数量在快速增长。当以特定药物为主题来访问出版的杂志、文献时，计算机化的摘要和信息数据库通常是访问的第一站。近年来，有太多的新的药物信息系统产品，但是可能最有用的、具有国际前景的莫过于美国联机医学文献分析和检索系统（MEDLINE）、EMBASE、国际药物摘要（IPA）、CAplus以及BIOSIS预览。在传统上这些数据库被划分为索引和摘要资源，最初是纸质印刷品。但是我们应当注意到这些数据库的电子版本的最大的优势之一就是某些数据库可以直接链接到期刊文章的全文并显示出来。

1. MEDLINE

由美国国家医学图书馆创立的联机医学文献分析和检索系统（MEDLINE）是 *Index Medicus*、*Index to Dental Literature* 和 *International Nursing Index* 1996年以后的计算机化版本。虽然在MEDLINE当前的记录中52%的信息来自美国杂志，75%源于英文出版物，但是人们仍然能够检索到来自70多个国家超过4600种的生物医学杂志。67%的条目包含摘要且每周进行更新。

当在MEDLINE中检索一种药物时，最好使用通用名。

Y

由于商品名只有当其出现在原文的标题或摘要中才能被检索到，因此最好使用在美国采用的名称。然而，自从 1980 年 6 月份以来，国立医学图书馆（NLM）为了使药物检索更容易，增加了检索字段。现在人们可以用 CAS 登记号、酶委员会登记号和那些登记号的物质来进行检索。

2. EMBASE

EMBASE 是 *Excerpta Medica* 的电子版，由 Elsevier Science 出版社出版。它收录了来自 119 个国家 4000 多种生物医学杂志文章的索引，主要也是以英文文献为主。对欧洲和远东的文献的收录，EMBASE 要比 MEDLINE 更强些。它收录了 1975～1980 年出版的书籍。数据库可以追溯到 1974 年，每周进行更新。

通用名，其标准是世界卫生组织国际非专利名称，是 EMBASE 编索引者的首选；对于“制剂组合物”而言，商品名是首选。然而，EMBASE 允许用比 MEDLINE 更多的名称来检索药物，如果厂名出现在原文里，甚至可以包括生产厂家的名字。与 MEDLINE 相比，EMBASE 更多地集中在生物医学文献的药理学和毒物学方面。

3. IPA

国际药学文摘（International Pharmaceutical Abstracts，IPA），从 1970 年开始有电子版本，由美国健康系统药剂师协会主办，在其上可能只能检索到大约 800 多本杂志，但顾名思义，它专门收录来自全世界的药学文献。Bonnie Snow 的研究发现，12% 的 IPA 杂志在 MEDLINE、EMBASE、EIOSIS 预览以及化学文摘中都没有涉及[1]。IPA 还可以检索到自 1988 年以来的 ASHP 会议，以及美国大学药剂师协会和美国药学会的会议。所有的收录均有摘要。首选的药物检索名称是美国采用的名称。如果实验室代码和化学药品名字出现在相同的文章里面，要首选实验室代码。当检索一种酶的时候，不妨在 EC 编码之前试一下 CAS 登记号。对于制剂、给药系统、药物实践、药事法规、化妆品、制药技术以及草药方面的文献，IPA 是基本的资源之一。

4. CAplus 存储器

CAS 是美国化学会的分支机构，建立了大量的数据库，涉及了广泛的科学领域，不仅有化学，还有物理学、生物学和应用科学。CAS 的 CAplus 从化学药品摘要发展而来，《化学文摘》可以追溯到 1907 年，现在它是最大的化学检索和摘要数据库之一，涉及了 8000 多种杂志，此外还有会议记录、论文、书籍和来自 33 个国家专利局的专利。专利构成了数据库的 30%。它也包含电子版杂志和网络预印本。文献每天进行更新，所采用的资料来自 130 个国家，47 种语言，覆盖了全世界。

CAplus 对药物开发第一阶段的研究工作非常有用。然而，在临床应用上，CAplus 并不是很有用。不可避免地，寻找一种物质最好的方法就是使用它的 CAS 登记号。甚至还可以画出一种化学结构式并根据它来查找 1966 年之后的资料。只有当作者在原始资料中提供了通用名和商品名时，才使用它们来进行检索。

5. BIOSIS 预览

由美国生命科学信息机构出版，BIOSIS 从大约 5500 种杂志、论文、会议记录、书籍和组织报告中将生命科学资料编入了索引，还包括了 1986～1989 年的一些美国专利。该文献来自 100 多个国家，使用 57 种语言，英文也是主要语言，86% 的参考书目来自英文原始资料。BIOSIS 可以追溯到 1969 年，每周进行更新。自 1976 年以来，55% 的收录提供了作者摘要。

生命科学的发展使 BIOSIS 比 MEDLINE 或 EMBASE 覆盖了更广泛的科学文献，并且它将重点放在研究而不是临床实践上面。因此，在查找药物开发早期的文献方面，BIOSIS 是有优势的。

当查找一种药物时，首选美国采用的名称，但是自从 1998 年以来，还可以利用 CAS 登记号进行查询。只有当商品名、酶委员会编码和实验室编码在原始文献资料中给出时，才可以用它们来作为检索的字段。在美国生命科学信息机构的编索引者将不会将它们添加到数据库中。

其他的药物和检索服务在国际上知名度较小，但是在药物信息领域包括 Pharm-line 和 RPS e-PIC 在内的一些数据库也有着重要的地位。

6. Pharm-line

在英国国民医疗服务的各大医院里，药师索引了大约 100 多种英文药物和医学杂志。该项目是以英国盖伊和圣托马斯看护医院为基础，英国药物信息药剂师组织也参与了它的编写。该数据库可以追溯到 1978 年，现在每周进行更新，在制药和临床药物方面作用突出。

7. RPS e-PIC

电子制药信息报道（e-PIC）是由大不列颠皇家药物协会创立的，由五个数据库组成，自 1992 年以来，这些数据库包含了主要从英国制药和医学杂志上节选的摘要。这些数据库就是 e-PIC，主要报道药学实践、新产品、废止的产品、制药（包括制剂、配方和技术）以及药学史方面的信息。

8. 选择索引和摘要服务的标准/相关问题

查找二次文献是一件既费钱又费时的事情，一些摘要数据库强劲的市场销售使人们难以做出选择。为便于人们选择数据库，提出如下的标准[2,3]：

（1）涉及的主题和描述符的使用。

（2）可以检索的字段。哪些信息可以索引？例如，你可以用商品名进行检索吗？

（3）涉及的资料的类型。

（4）覆盖的地理范围。

（5）所包含的项目的标准。

（6）指定读者。

（7）创作机构的声望——它是来自一个值得尊重的机构吗？

（8）数据库的大小——记录的总数和参考的杂志的数量。

（9）涉及的年数。

（10）数据库更新的及时程度——多长时间更新一次？一个项目从公开出版到出现在数据库的间隔时间是多少？

（11）是否有摘要？

（12）使用者界面友好程度和“帮助”屏幕的质量。

（13）下载操作结果是否轻松。

（14）成本——并不仅仅指数据库本身的成本，使用时还包括设备费用和在线费用。

值得注意的是，并不是所有的这些标准都能够直接与数据库本身有关，有些是与提供数据库的软件供应商有关。例如，你可以从许多软件供应商那里购买到 MEDLINE，包括 Ovid 和 Compact Cambridge，不同的供应商给你提供的用户界面不同，当然价格也会随之不同。价格还会随着数据库最新资料的时间的不同而变化，这取决于供应商何时从国立医学图书馆（NLM）的 MEDLINE 原始资料更新他们的产品。NLM 还通过 PubMed（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed）和 NLM 网关免费提供资料。一些研究表明，虽然这些数据库在索引和摘要服务方面出现重叠，但是它们之间的差别已经足够大了——这意味着检索者需要使用不止一种服务以获得对相关文献的精确描述。

一次文献

1. 专利信息

每个国家都有它自己的专利法，国家之间在专利保护期长短、专利的称谓，甚至什么能够获得专利授权等方面都是不同的。在美国，专利有的时候被认为是“实用专利”，但是一些国家提供类似于专利但并不是发明创造的“实用模型”，其受保护期更短。实用专利也被称为是“微型专利”（或者在德国被称为是“Gebrauchsmustern”）。在英国，既不会给予一种新型植物和动物专利权，也不会给予用于人或动物身体的一种外科疗法、治疗措施，或者一种诊断方法专利权。然而，并不是所有的国家都这样，如在美国，植物可以获得专利权。

专利搜索是一门专业的学问，但是对专利搜索的新手来讲，还是有一些有用的选择可供参考。所有的专利局都有他们所拥有的专利的索引，并且许多都是电子化的。化学文摘包括专利。免费的网络服务有由欧洲专利局提供的 esp@cenet（http://gb.espacenet.com），它包括超过 3000 万项世界专利，尽管过去的三年是它最全面的时候，但是它仍然可以追溯到 1920 年。对于一些专利申请，你能够获得全文，但是对其他一些专利，你只能获得摘要或基本的目录资料。美国专利和商标局数据库（http://www.uspto.gov/patft/index.html）提供了自 1976 年 1 月以来的专利的全文版，以及自 1790 年以来的每一项美国专利整个页面的图像版。英国专利状态信息服务处（http://webdb4.patent.gov.uk/patents）提供了查询英国专利的状态信息。例如，如果你知道公开号或申请号，你可以看到这项专利是否仍然有效。

值得注意的是，由于正在注册专利的研究者们往往会在项目研究过程中以文章的形式发表他们的研究工作[4]，在专利和杂志文献之间会有一种不可避免的重叠。一项研究发现，英国药物专利有 60%是以文章的形式书写的。但是，当然还有 40%不是。无论如何，包含在专利里面的信息与杂志里面的往往是不同的。

2. 电子期刊

越来越多的公开出版的期刊开始提供在线内容。有时，这是免费的——例如，大不列颠皇家药物协会的药物杂志（http://www.pharmj.com）。但是更经常的是需要付费订阅。为了获得其他在线药物杂志的详细资料，不妨试一下虚幻药物图书馆、药物网（在下文的互联网资源部分将会提供更多的相关信息）和免费医学杂志网（http://www.freemedicaljournals.com）。一些杂志将提供比印刷版本更多的附加在线信息。自然杂志网站（http://www.nature.com）包含了作者的辅助资料，到授权数据库的链接以及参加在线讨论的机会。

在线和 CD 存储的电子杂志的合订本都可以购买到，因此你可以从自己的桌面上访问个人“虚拟”图书馆。最大的合订本之一来自 Elsevier Science 出版社，其在 ScienceDirect.com 上面提供了访问 1000 多个杂志的途径。其他的合订本包括威利国际科学和美国化学会。显然，其中的许多标题与药学没有直接的联系，因此我们推荐当人们在做出购买决定之前，先仔细地检查所包括的杂志。你可能会发现，使用“付费浏览”比合订本的完整版本要经济得多。

网络是由美国物理学家首先倡导的，但是现在包含所有的科学领域。如果你想免费寻找一些网络，不妨试一下科学公共图书馆（http://www.publiclibraryofscience.org）和 BioMedNet（http://www.bmn.com）。电子杂志有其优势：可以轻松获得，因此你不必再专门去一趟图书馆；不会占用书架空间，你不必再花钱去装订和进行装订修补。对图书馆而言，它们还有另外一个优势，那就是很容易收集使用统计数字，并提供给决策者。然而，在从订阅印刷版本改成订阅电子版本之前要考虑一些问题。例如，识别和查找电子资源比印刷版本要花费更多的时间[5]。印刷的杂志一般更便携，更容易浏览。持续访问问题：如果你删除了标题，你仍然能够访问你已经付费了的出版物吗？存档：出版商将会维持一份永久的存档文件吗？（在英国，目前，没有法律规定将电子/数字资料放到国家档案馆。）如果证明现有的技术是暂时的，出版商愿意将资料转移到一

Y

种新的媒介中去吗？（在20世纪80年代后期，我们都不用缩微胶片了，据说CDS的存储期很长，但是我们后来发现它们平均使用寿命只有10～15年）印刷杂志的电子版本是在印刷版发行之前还是发行之后才能为人们所用呢？还有，一定要阅读许可条件以确认是否存在应用时有一些限制，如你能下载一篇文章而不能将它打印出来吗？

3. 互联网资源

互联网，给药物信息的交流传送带来了巨大的变化。它不仅显著地增加了信息量（据估计，环球网包含了大约8亿页信息[6]且每年数量成倍增加[7]），而且它还使一个外行人很容易地了解过去被认为是“非常专业”的资料。政府、公司、协会、慈善团体、教育组织和个人都在发挥着作用。不仅是巨大的信息量使互联网难以搜索，而且很难区分优质资料和可疑的甚至是导致危险的资料。一项以检索E-wing恶性毒瘤信息的调查发现，在取样的网页中有40%来自未经审查的资源，而其中有6%给出了错误的信息[8]。还有很多类似的例子[9]。当然，能够从互联网上获得的不仅仅是药物信息，还有药物本身。然而，我们必须把互联网的危险铭刻在我们的脑海中[10]。从互联网可以获得大量的非常有用的信息，我们应当记住印刷媒介也可能会被滥用[11]。

如果你需要在互联网上搜索一个未知站点，一个好的起点就是一个药学专门的“网关”，又称为门户网站索引相关网页的网址。阿耳戈斯票据交换所（http://www.clearinghouse.net）综述了这些门户网站（有时被称为“虚拟图书馆”或“互联网入口”）。药物网（http://www.pharmweb.net）始于1994年，是制药业最初的网关之一。它将来自全球的原始资料编了索引，包括政府、公司、协会和药学院。基于美国的虚拟图书馆，药学部分（http://www.pharmacy.org）看起来都像是全球性的，但是确实存在美国的偏好。例如，英国的国民医疗服务并没有名列其中。药物网（http://www.pharmiweb.com）是为英国药物行业而设计的，并提供了关于每个公司职位空缺和新闻等信息。InPharm.com（http://www.inpharm.com）也是以行业为目标，它为了鼓励互联网的商业开发而为公司建造网址，但是它还按照标题（例如，新药物问世）将网址列入目录，包括医学通信者的姓名地址录，还有行业新闻和职位空缺信息。由伦敦和东南药物信息机构设计的、以卫生专业人员为目标的站点，称为药物信息区（http://www.druginfozone.org）。它包含一个新的版面——当前知识公告的最新议题和来自Pharm-line数据库的每个月的目录列表。政府越来越认识到需要引导迅速增多的互联网用户们访问优质健康网站，利用这些信息和交流对健康从业者及消费者都有益处。美国的健康发现（http://www.healthfinder.gov）不仅能够链接到政府信息，还能列出公司、协会、慈善团体和学院。健康电子图书馆（http://www.nelh.nhs.uk）是英国政府为专业人员和外行们设计的，而英国医疗服务指导（http://www.nhsdirect.nhs.uk）为患者提供了关于症状、身体状况、疾病等的信息。美国食品和药品管理局（FDA）有它自己的网址（http://www.fda.gov），但是你还可以访问由美国哈佛大学医学院、宾夕法尼亚大学和安特纳美国健康护理中心联合开发的因特健康网（http://www.intelihealth.com）的“新药和召回”版面，从而来了解FDA。药物信息可以用通用名、商品名或适应证进行搜索。尽管是为外行设计的，仍然还有一个“专业网络”区域。另外一个为患者设计的、可以用通用名和商品名进行搜索的药物数据库是MedMaster（http://www.safemedication.com/about/medmaster.cfm），它来自美国卫生系统药剂师协会，这是由ASHP《药物教学手册：患者用药信息指南》发展而来的。

为了获得药物电子邮件服务机构目录，不妨试一下药物网（PharmWeb）或其他一些前面讨论过的药物专门网关。

如果你在“网上冲浪”时想找到相关的、能够提供所需的药物信息的优质网站，需要耗费大量的时间和精力。因此，我们再次提出如下的指南，希望它们对你有用。

选择互联网资源的标准/和相关问题：

（1）供应商/出版商信誉度。他们有名吗？一个设计良好、信誉可靠的资源将会提供“关于我们”的版面，有详细的联系方式，有的还会有一个网站标志。你认可供应商吗？URL（在互联网的WWW服务程序上用于指定信息位置的表示方法）还会提供给你关于一个组织起源的提示。例如，ac.uk是指英国学术机构，.edu是指美国教育组织。如果列出资金源头，会对包含的信息产生不利影响吗？

（2）地理位置。“关于我们”版面或URL将会解答。所有的国家，除了美国，他们的URL都有一个国家代码。.com在世界范围内正越来越多地使用着，它没有显示任何的国家属地。还有一个问题就是，任何人都可以免费注册一个co.uk域名。这是需要我们考虑的另外一个证据。

（3）作者信誉度。你认可这个作者或组织吗？如果你不认可，那么值得做的事情是做一项关于相应质量指数和摘要服务的研究，来发现是否他们在一个有名的杂志上有过相同主题的出版物。

（4）作者提供了参考书目来支持所有的陈述吗？

（5）更新速度。网站提供了它最后一次更新的时间了吗？

（6）包含信息的标准。核对一下“关于我们”和“帮助”版面的该项信息。

（7）指定的读者：如果你想把这个网站推荐给你的患者，请记住网站声明：用户如果有任何的担心，应当咨询专业人员。

（8）奖励。显然，如果一个网站已经赢得了一项著名的奖励，这是一个积极的暗示，但是一定要确定你知道这项奖励的信誉度。著名的奖励包括那些来自健康网络基金的奖励。他们的网站还起着通向优质医学信息的网关的作用。

（9）安全。每个人都应该记住没有一台网络计算机是

完全安全的，用户应当检查确认该网站是否有一些保密制度，它是否收集敏感的个人信息资料。

（10）访问速度。访问速度受到供应商和用计算机硬件、通信技术和软件的影响。地域也是很重要的，互联网供应商当地时间清晨时速度更快。

（11）使用方便。

（12）最后的但不是最不重要的——使用价格，如果有的话。

结语

已经是巨大数量的药物信息将会继续增多，对此人们没有什么质疑，但是它对那些渴望在其领域保持最新信息的人来说带来了严重的问题。此外，互联网的急速发展所带来的进一步的“信息超载”需要我们认真对付，现在通过使用网关和搜索引擎来寻找到信息的优质来源是必要的。实际上（并且有一点讽刺地），这些发展得如此之快，以至于我们现在难以与可以利用的网关和入口保持同步，更不用说关于任何主题的一次信息。以帮助用户寻找药物信息为目标的新产品和打包服务定期地进行广告宣传，并且进入了所有的专业和科学论坛。因此，对于终端用户来讲，发展并磨炼评估技能，使他或她能够选择优质的相关的药物信息来源，这一点变得越来越重要。最后，我们希望读者能记住：有经验的药物信息科学家和药物图书馆管理员能够帮助你寻找信息。

参 考 文 献

1. Snow, B. Online Database Coverage of Pharmaceutical Journals. Database 1984, 7, 12－26.
2. Fishman, L.; Stone, V. L.; DiPaula, B. A. Where Should the Pharmacy Researcher Look First? Comparing International Pharmaceutical Abstracts and MEDLINE. Bull. Med. Libr. Assoc. 1996, 84 (3), 402－408.
3. Brown, C. M. The Benefits of Searching EMBASE Versus MEDLINE for Pharmaceutical Information. Online and CD-ROM Rev. 1998, 22 (1), 3－8.
4. Eisenschitz, T. Intellectual Property. In Information Sources in Pharmaceuticals; Pickering, W. R., Ed.; Bowker-Saur, 1990; 144－170.
5. Tenopir, C.; King, D. W. The Use and Value of Scientific Journals: Past, Present and Future. Serials 2001, 14 (2), 113－120.
6. Lawrence, S.; Giles, C. L. Accessibility of Information on the Web. Nature 1999, 400 (6740), 107－109.
7. Bradley, P. The Advanced Internet Searchers Handbook; Library Association Publishing: London, 1999.
8. Biermann, J. S.; Golladay, G. J.; Greenfield, M. L. V. H.; Baker, L. H. Evaluation of Cancer Information on the Internet. Cancer 1999, 86 (3), 381－390.
9. Purcell, G. P.; Wilson, P.; Delamothe The Quality of Health Information on the Internet: As for Any Other Medium it Varies Widely; Regulation Is Not the Answer. BMJ 2002, 324 (7337), 557－558.
10. Smith, R. Almost No Evidence Exists That the Internet Harms Health. BMJ 2001, 323 (7314), 651.
11. Shepperd, S.; Charnock, D. Against Internet Exceptionalism: There's Nothing Radically Different About Information on the Web. BMJ 2002, 324 (7337), 556－557.

进一步阅读

Bowman, L. A.; Adams, M. S.; Christopher, A. Information Resources in Pharmacy and the Pharmaceutical Sciences. In Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed.; Gennaro, A. R., Eds.; Lippincott Williams & Wilkins: Baltimore, 2000; 60－69.

Judd, A. UK Drug Information Manual, 4th Ed.; UKDIPG: Leeds, 1997.

Newton, D. How to Find Information: Patents on the Internet; British Library: London, 2000.

Snow, Bonnie. Drug Information: A Guide to Current Resources, 2nd Ed.; Medical Library Association: Scarecrow, 1999.

（于垂亮 译）

Y

药物在水性溶媒中的增溶

Paul B. Myrdal
Samuel H. Yalkowsky
The University of Arizona, Tucson, Arizona, U. S. A.

引言

治疗药物经常是全身给药，一旦全身给药，药物将分布于身体各部位。本质上讲，药物通过在体内的分布，处方/剂型中的初始浓度被稀释了。因此处方实际是药物的浓缩物。对于固体剂型，输送一定剂量的药物通常不是物理问题，但对于注射剂型来说，由于受到药物在水溶液中的溶解性和溶液体积的限制，剂量会是一个重要的处方挑战。因此溶解度差的药物要制成溶液剂，就有必要改变处方以利于药物的溶解。

选择什么样的增溶方法取决于药物被增溶的有效程度、系统的稳定性以及用于该给药途径的介质的生物相容性。对于固体剂型，有可能通过改变固相来提高溶出度。对于注射剂，4 种最常用的增溶技术是：调节 pH，加入助溶剂，通过加入表面活性剂形成胶束内含物以及形成复合物。本文将概述以上每种技术的理论和实际应用。关于增加药物溶解度的技术的更详细讨论，可以参考一些书[1,2]。

溶解度

在实验室随意尝试试验之前，明智的做法是要明白是什么理化性质使某一给定药物的溶解性不好。有两个关键因素决定有机溶质在水中的溶解度，即晶体结构（熔点和熔化焓）和分子结构（活性系数）。非电解质有机物在水中的溶解度 X_w，可以通过这样的两项相加来简单描述，即：

$$\log X_w = \log X_i^s - \log\gamma^w \qquad (1)$$

式中：X_i^s 是有机物在水中的理想溶解度；γ^w 是它在水中的活性系数。

1. 理想溶解度

理想溶解度是关于晶体结构对溶解性的影响。一个溶质分子必须首先从晶格上解离下来，才能进入溶液。从晶格上的解离伴随着自由能的改变，解离一个溶剂分子需要的能量越多（即熔点越高），溶解度越低。

利用焓-温度的热力学循环，可以对摩尔自由能进行定量，这对于在某一给定温度 T 下产生假想的过冷流体是必要的[3]。将晶体加热至熔点，使晶体熔化，然后将液体冷却至参考温度，与这个过程相应的焓变与熵变都必须严格地计算出来。这里为了方便讨论，将焓随温度的变化（热容）忽略，这就有了简化的数学表达式：

$$\log X_i^s = \frac{\Delta S_m(T_m - T)}{2.303RT} \qquad (2)$$

式中：X_i^s 是理想溶解度（摩尔分数）；R 是理想气体常量（1.98cal/deg mol）；ΔS_m 是熔化过程的熵变；T_m 是该化合物的熔点（K 氏温度）。

如果熔化过程的熵变 ΔS_m 不能通过实验测得，对于刚性有机分子，可以近似认为是 13.5cal/deg mol[4]。如果感兴趣的温度是 298K，那么式（2）可写成：

$$\log X_i^s = -0.01(T_m - 298) \qquad (3)$$

或

$$\log X_i^s = -0.01(M_P - 25) \qquad (4)$$

式中：M_P 是该化合物的熔点（摄氏温度）。如果熔点低于 25℃（即室温下为液体），那么就没有晶体对溶解度的限制，式（4）为零。

对于结晶型的化合物，理想溶解度是纯晶体的严格函数，因此与溶剂无关，强调这一点非常重要。式（4）也假定，溶剂无论如何不影响固相的自由能改变。

表 1 证实了式（4）描述的熔点对溶解度的影响。可以看出，熔点每变化 100℃，溶解度就相应地变化 10 倍。这样，对于熔点在 325℃的某一假想化合物，相对于在室温为液体，晶体结构会使得溶解度大约下降 3 个数量级（1000 倍）。

表 1 不同的假想熔点和式（4）描述的它们对于溶解度的影响假想的熔点

假想的熔点/℃	$\log X_i^s$［式（4）］	溶解度下降
0	0	无影响
25	0	无影响
125	−1	10 倍
225	−2	100 倍
325	−3	1000 倍

2. 活度系数

一个化合物水中的活度系数描述了分子结构对化合物在水中溶解度的影响。如果一个化合物与水混合并形成理想溶液，那么活性系数将取作 1，式（1）的最后一项将是零。在这种情况下，固相就是抑制溶解的唯一物理性质。相对来说，大多数药物都是非极性的，不会与水形成理想溶液。因此，为了理解内在分子结构对溶解性的限制程度，对于水中活度系数进行估算是很有帮助的。

人们已经建立了许多方法来估算水中活度系数[3,5~13]。在医药工业中已经得到成功应用的一种便利的方法是使用辛醇/水分配系数。Yalkowsky 和 Valvani[14] 指出，分子活度系数与辛醇/水分配系数 $K_{o/w}$ 直接相关，它们有下面的关系：

$$\log\gamma^{w} = -\log K_{o/w} + 0.80 \quad (5)$$

有很多方法可用来估算辛醇/水分配系数，其中一种广泛使用的方法是基团贡献方法 CLOGP[15]。

式（5）提供了一个便利的工具，用来评价结构溶解度的影响。表 2 证实了随着分配系数的增加，溶解度随之减少。当 $K_{o/w}$ 增加 10 倍（$\log K_{o/w}=1$）时，溶解度随之减少 10 倍。因此，分配系数为 1000 的化合物（$\log K_{o/w}=3$），其溶解度大约比 $K_{o/w}$ 为 1（$\log K_{o/w}=0$）的对照化合物小 3 个数量级（1000 倍）。

表 2 不同的假定 $\log K_{o/w}$ 和式（5）描述的它们对于溶解度的影响

$K_{o/w}$	$\log\gamma^{w}$ [（式（5）]	溶解度下降
1	−0.8	对照
10	−1.8	10 倍
100	−2.8	100 倍
1000	−3.8	1000 倍

3. 估算溶解度

了解了辛醇/水分配系数和熔点，将式（4）和（5）代入式（1），可以估算溶解度：

$$\log S_{est} = -0.01(M_P - 25) - \log K_{o/w} + 0.80 \quad (6)$$

式中：S_{est} 是估计的摩尔溶解度；M_P 是熔点，℃；$K_{o/w}$ 是辛醇/水分配系数。对于室温下为液态的药物，熔点项为零，故有：

$$\log S_{est} = -\log K_{o/w} + 0.80 \quad (7)$$

尽管式（6）与式（7）是用来估算水中溶解度的简单式，但是有助于理解药物不易溶解的原因。式中给出了定量描述是哪个理化性质限制了溶解度。如果一个化合物在室温下具有低熔点或者没有熔点，而有一个高的 $\log K_{o/w}$ 值，那么分子结构限制了溶解度，必须改变水性溶媒以利于溶解；如果熔点很高而 $\log K_{o/w}$ 值低，那么改变水性溶媒不能显著增加溶解度，此时控制固相可能是必要的；如果某一化合物具有高的熔点和高的 $\log K_{o/w}$ 值，处方设计者将会在增溶药物上面临着巨大的挑战。

固体相

从以上讨论得知，一个溶质分子的固体相是化合物溶解性的基础部分。因此，在一个给定的体系里，理解和表征药物的固体相，从制剂的观点来说是非常重要的。Byrn 等[16] 提出了固体化学在理论和实践方面的一个综合回顾，以及对医药行业的重要性。

对于任何原料药和制剂来说，要经常考虑到在给定的环境条件下只有一种固相是热力学稳定的，这很重要。最稳定的固相具有最低的自由能，相应地具有最低的溶解度。就溶解度而言，盲目使用亚稳态晶型会导致制剂的稳定性问题。这样一来，通过改变晶型来增加溶解度似乎无能为力。显然，最稳定的晶型用来做混悬剂是最稳妥的选择。对稳定的产品来说，溶剂介导的转化动力学通常非常迅速，难以控制。然而对于固体剂型来说，可以使用不太稳定的固体相，因为在干燥状态下分子流动性减小了。成功的关键因素在于亚稳态晶型的复原是否具有本质上很高的能垒，并且是否从动力学角度已进行深入研究。为了促进稳定性，可能有必要添加辅料或者采用包装限制，以消除或减慢转化。

1. 表观溶解度与溶出速率

拥有较高自由能的晶型在系统中的表观溶解度比真正平衡的溶解度高。在给定系统中，当起始固体材料不是最稳定的形式时，表观溶解度的增加随时可能发生。然而，亚稳态晶型只会产生溶解度暂时的增加，最稳定的晶型最终会沉淀，表观溶解度的增加将减少直至到达热力学平衡的溶解度。过饱和的程度与持续时间将取决于起始材料的特性、成核速率与稳定型的成长动力学。因此，处理亚稳态晶型本质上的难题是转化动力学不能够预计或控制。

由于具有较高的表观溶解度，亚稳态晶型与更稳定的形式比较，具有更快的溶出速率。溶质质量 M 的变化，作为时间 t 的函数，与它的表观溶解度 S_{app} 直接成比例，可写为：

$$dM/dt = K \times A(S_{app} - C) \quad (8)$$

式中：A 是与溶剂接触的溶质表面积；C 是溶质在溶液中的浓度；K 是一个常数；它包含了溶质的扩散系数与系统的其他流体动力学性质[17]。因此，亚稳态晶型的表观溶解度越大，溶出速率就越快。Hamilin 等[18] 解释了大量药用化合物的溶出速率对溶解度的依赖。Yashihashi 等[19] 对特非那定建立了初期的溶出速率与起始材料的熔化热之间的相关性。此外，由于晶体对溶解度的贡献与溶剂无关，因此这个普遍的关系式事实上可以应用于任何溶剂系统。Nicklasson 等[20] 针对乙醇助溶剂系统成功地建立了溶出速率与溶解度的相关性。

表面积也与溶质的溶出速率直接成比例。减小粒径是另一种普遍且常常有效的使药物在较早的时间点溶液中有较高浓度的方法[21~28]。随着粒径减小，单位体积溶质的表面积增加，故有更多的药物暴露于溶剂中。其次，随着粒径减小，表面分子具有较高的自由能，也会增加溶出。最后，固体材料的加工常常会导致粒子内部或某一表面内的晶格缺陷，结晶性丧失（无定形），这两方面都会使表观溶解度增加。Mosharraf 等[29] 证明了晶体结构的无序性对溶解度和溶出速率的影响。

溶解度与溶出速率的重要性是要突出强调的。口服生物利用度不足可能是化合物在肠道的溶解度低和（或）是

溶出速率慢造成的。有时，使用一种具有较高的表观溶解度和（或）能够增加溶出速率的固体材料，以增加生物利用度，这种办法是可行的。Aguiar等[30,31]指出，无味氯霉素的晶型B的溶解度大约是晶型A的两倍，前者在体内能够达到更高的血药水平。他们还指出，随着剂型中晶型B的百分数增加，无味氯霉素的血药浓度发生线性增加。其他的一些研究者[32~34]也发现，随着对固体形式的适当选择，生物活性会因为溶解度或溶出速率增加而得到改善。

2. 不同的固相对表观溶解度的促进作用

为了评价一个亚稳固相相对于另一个亚稳固相溶解度的增加，人们定义了一个简便的溶解度比。这里，溶解度比的定义是：溶解度较高的相与溶解度较低的相的溶解度之比。表3列出了所选药物在不同固相时的溶解度比。

表3 药物在不同固相中所测得的溶解度之比[1)]

药物（温度/℃）	较易溶解的相/较难溶解的相	溶解度比	参考文献
醋酸己脲（37）	Ⅱ/Ⅰ	1.2	[35]
苯噁洛芬（25）	Ⅱ/Ⅰ	1.5	[36]
格列本脲（37）	Ⅱ/Ⅰ	1.6	[37]
甲苯达唑	C/A	3.6	[38]
甲苯达唑	B/A	7.4	[38]
甲丙氨酯（25）	Ⅱ/Ⅰ	1.9	[39]
oxyclozionide（25）	Ⅱ/Ⅰ	2.6	[40]
oxyclozionide（25）	Ⅲ/Ⅰ	3.9	[40]
氨苄西林（未引用）	无水化合物/三水化合物	1.3	[41]
氨苄西林（20）	无水化合物/水合物	2.2	[42]
氨苄西林（30）	无水化合物/水合物	1.5	[42]
葡庚糖酸钙（37）	无水化合物/3.5水合物	18.6	[43]
红霉素（30）	无水化合物/二水化合物	2.2	[44]
拉米夫定（25）	无水化合物/0.2水合物	1.2	[45]
盐酸帕罗两汀（20）	无水化合物/半水化合物	1.7	[46]
苯巴比妥（20）	无水化合物/水合物	1.1	[47]
苯巴比妥（25）	无水化合物/水合物	1.4	[47]
苯巴比妥（35）	无水化合物/水合物	1.0	[47]
吡罗昔康（25）	无水化合物/单水合物	1.0	[48]
磺胺甲噁唑（25）	无水化合物/单水合物	1.2	[49]
茶碱（25）	无水化合物/单水合物	2.0	[50]
尿酸（25）	水合物/无水化合物	1.6	[51]
尿酸（37）	水合物/无水化合物	1.9	[51]
DMHP（25）	甲酸酯溶剂化物/无水化合物	8.2	[52]
呋噻米（37）	二氧杂环己烷溶剂化物/无水化合物	1.3	[53]
呋噻米（37）	二甲基甲酰胺溶剂化物/无水化合物	1.2	[53]
格列本脲（37）	戊醇溶剂化物/无水化合物	31.8	[37]
格列本脲（37）	甲苯溶剂化物/无水化合物	2.4	[37]
咖啡因（25）	无定形物/晶体化合物	6.5	[54]
二乙酰吗啡（25）	无定形物/晶体化合物	16	[54]
茶碱（17）	无定形物/晶体化合物	58	[54]

续表

药物（温度/℃）	较易溶解的相/较难溶解的相	溶解度比	参考文献
可可碱（16）	无定形物/晶体化合物	50	[54]
吗啡（20）	无定形物/晶体化合物	268	[54]
氢氯噻嗪（37）	无定形物/晶体化合物	1.1	[55]
苄氟噻嗪（37）	无定形物/晶体化合物	2.8	[55]
环噻嗪（37）	无定形物/晶体化合物	6.2	[55]
环戊噻嗪（37）	无定形物/晶体化合物	8.3	[55]
泊利噻嗪（37）	无定形物/晶体化合物	9.8	[55]

1）同时给出了所使用的不同固相和实验温度。

从表 3 可以看出，尽管在有些例子中，两相间的溶解度没有增加，但溶解度比都是大于或等于 1 的。从给出的数据看，溶剂化物的溶解度暂时增加与多晶型物类似，溶解度比的范围通常为 1～3。大多数化合物的溶解度增加都不超过 10，而葡庚酸钙和格列苯脲却有明显的增加，分别是 20 和 30。

若根据式（4），溶解度的大幅度增加应归因于那些非晶体的固相部分，即无定形物。对于纯的无定形物来说，晶体对溶解度是没有贡献的，故该化合物可看作是一种液体。由于很难得到纯的无定形物，因此无定形物经常会有一定程度的结晶。尽管如此，相对于任何结晶性固体部分，无定形物确实具有很高的自由能。所以，无定形物可能对高溶解度比有一定作用。Toffoli 等[54] 和 Corrigan 等[55] 研究了无定形物的作用，发现了大范围的表观溶解度比。他们的实验数据部分在表 2 中给出，这些数据表明无定形物对于增加溶解度的潜在作用是最大的。其他研究者同样观察到，使用无定形物之后，溶解度确实明显增加[56～58]。还有一些研究者观察到，使用无定形物可以在体内发挥作用[59,60]。尽管如此，由于这些无定形物是高自由能系统，经常使用它们是不切实际的。Giron[61] 注意到一些具有相对比较稳定的无定形物的化合物。

通过改变固相能增加药物的溶出速率或者表观溶解度，这可能会增加水中难溶药物的生物利用度。但由于物理化学稳定性的问题，高自由能的固相的使用受到了限制。为了确保使用亚稳态晶型的剂型长期稳定，还需做一些重要的实验。

3. pH 的控制

固相处理常常是没有很好的效果或者是不切实际，因此，有必要改变溶剂。对于可电离的有机溶质，改变系统的 pH 可能是增加溶质在水中溶解度的最简单、最有效的方法。对于一元弱酸药物 $HA_{(solid/liquid)}$，在水中时：

$$HA_{(solid/liquid)} \leftrightarrow HA_{(solution)} \tag{9}$$

$$HA_{(solution)} + H_2O \xleftarrow{K_a} H_3O^+ + A^- \tag{10}$$

式中：$HA_{(solution)}$ 表示溶液中游离（未解离）的酸；A^- 表示溶液中已经电离的酸。药物在溶液中的总浓度 S_T 等于 $[HA_{(solution)}] + [A^-]$。其中，$HA_{(solution)}$ 是药物的固有溶解度（S_w）。由式（10）可知，已电离药物的浓度是：

$$[A^-] = \frac{K_a[HA]}{[H^+]} \tag{11}$$

从而可得：

$$S_T = S_w + \frac{K_a[HA]}{[H^+]} \tag{12}$$

因为 $[HA] = S_w$，$\log K_a = pK_a$，$\log [H^+] = -pH$，式（12）可简化为：

$$S_T = S_w(1 + 10^{(pH-pK_a)}) \tag{13}$$

由上式可知，一元弱酸的总溶解度与它的固有溶解度、pK_a 以及系统的 pH 有关。

对于水溶液中的一元弱碱来说：

$$B_{(solid/liquid)} \leftrightarrow B_{(solution)} \tag{14}$$

$$B_{(solution)} + H_2O \xleftarrow{K_b} OH^- + HA^+ \tag{15}$$

与弱酸类似，它的总浓度可表示为：

$$S_T = S_w(1 + 10^{(pK_a-pH)}) \tag{16}$$

这里的 pK_a 指的是 HB^+ 的 pK_a。图 1 表示的是具有相同的固有溶解度但不同的 pK_a 的三种不同溶质的 pH-溶解度曲线。

图 1 表示的是电离可以有效地增加一元酸或一元碱在水中的溶解度。增溶曲线斜率代表着 pH 变化一个单位，溶解度将增加 10 倍。两性化合物，即含有酸性基团和碱性基团的化合物，它的 pH-溶解度曲线是图 1 的最上端到最下端的组合。这些化合物在 pH 等于 pK_a 的平均值时[62～65]，溶解度最小。二元酸或二元碱的溶解度与它们相对应的一元酸或一元碱类似。但是当第二个官能团发生电离时，增溶曲线的斜率就是 2 而不是 1，相应地，pH 变化一个单位时，溶解度将增加 100 倍。Garren 等[66] 给出了二元碱化合物的溶解度的完整数学表达式。

4. 成盐

式（13）与式（16）假设了溶质的离子形式具有无穷大的溶解度。然而，离子化的溶质能够与适合的反离子成盐。盐的形成受盐复合物的溶度积 K_{sp} 所支配。比如，对于一个盐酸盐 BH^+Cl^-，它的热力学平衡式为：

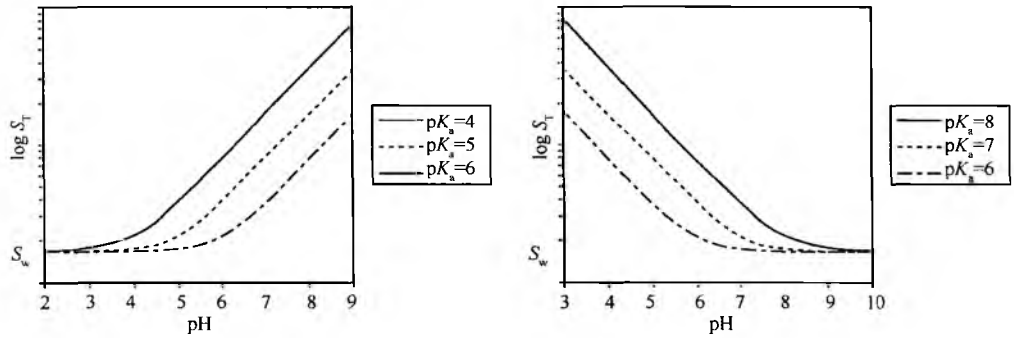


图 1　特性溶解度 $\log S_w$ 相同，pK_a 分别为 4、5、6 的典型弱酸的溶解度 $\log S_T$（左图）；特性溶解度 $\log S_w$ 相同，pK_a 分别为 8、7、6 的典型弱碱的溶解度 $\log S_T$（右图）

$$BH^+\ Cl^-_{(solid)} \xleftarrow{K_{sp}} [BH^+] + [Cl^-] \qquad (17)$$

式中：$BH^+\ Cl^-_{(solid)}$ 代表固态盐酸盐；BH^+ 是离子化的盐基；Cl^- 为反离子。因此，离子形式的浓度将由盐的溶解度限制。一些有机盐在水性体系中极易溶解，其他的则不是，因此能够显著限制溶质的溶解度。Chowhan[67] 证明了 4 种不同的盐对甲氧萘丙酸的 pH-溶解度曲线的影响。图 2 表明，在 pH 1～6 的范围内，4 种盐表现一致，并且可用等式（13）表示。然而，根据所给盐的不同，甲氧萘丙酸的溶解度在 pH 6.5 以上时受到限制。相应的盐的溶解度由坪值来表征，钾盐的溶解度几乎是钙盐的 200 倍。因此，在某一坪值时，盐是以固相部分与系统达成平衡，这就再一次强调，了解是什么因素影响溶解度，弄清固相特征是很重要的。

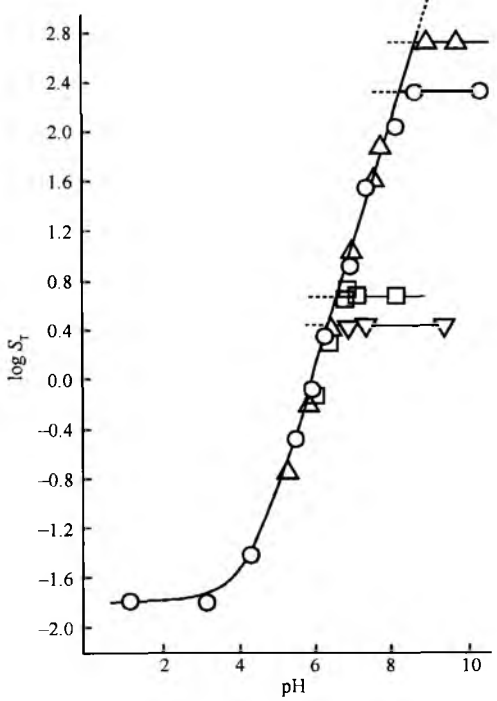


图 2　萘普生和 4 种盐的溶解度-pH 曲线[67]
△钾盐；○钠盐；□镁盐；▽钙盐

Kramer 等[68] 先前也已经研究过盐的形成对溶解度的影响。图 3 给出了他们工作中的一张图表，表明了一个有机盐酸化物的 pH-溶解度曲线。由数据可以看出，就像式（16）所预计的那样，溶解度有一个指数增长，且与预期曲线有所偏离，大约在 pH 7.2 以下的水平大致达到坪值。随着 pH 进一步下降，溶解度也跟着下降，这是因为盐酸化物形成后，游离碱从溶液中消失了。Kramer 等解释了如何调整式（16）从而将盐的形成考虑在内。近来，对其他的数学表达式也进行了研究，通过对平衡离子影响的评价，来表征 pH-溶解度曲线[69～71]。

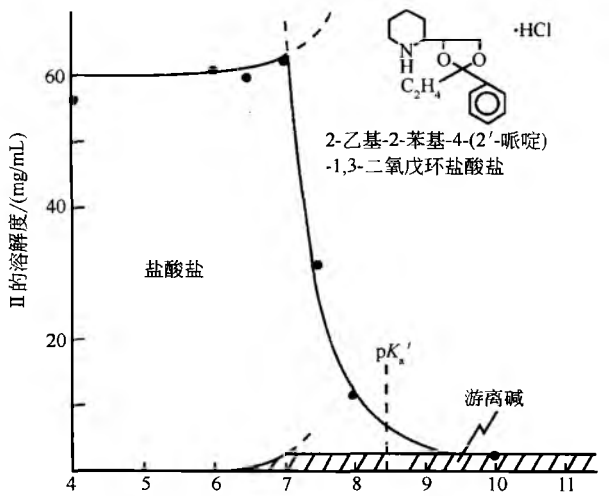


图 3　取代的哌啶基二氧戊环（Ⅱ）在 30℃ 0.05mol/L的琥珀酸盐缓冲液中的溶解度-pH 曲线，曲线为理论值[68]

除了对整体溶解度有影响之外，盐对溶质的溶解速率也有显著影响。因此，当试图合理选择的药物盐时，关于溶解度的各种考虑事项是需要评价的重要因素[72～77]。

5. 缓冲液

缓冲液的一个实际应用是来长时间的维持系统的 pH。对于 pH 增溶的药物，缓冲液的另一个实际应用就是减少或消除稀释时药物沉淀的可能性。已有报道显示，静脉注射给药后药物的沉淀与静脉炎有关[78～82]。正如前面所讨论

的，一个药物的溶解度会随着 pH 的改变而发生指数增长。同样，溶解度也会随着 pH 的变化而发生指数降低。如果 pH 增溶药物处方用介质稀释一倍，那么药物浓度将减少一半。同时新混合物的 pH 可能发生改变。如果 pH 沿着减少药物离子化的方向改变一个单位，那么药物的溶解度将减少 10 倍。如果溶液中的药物浓度超过了新的溶解度，那么药物会发生沉淀。

沉淀的程度和范围将取决于处方被稀释时抵抗 pH 变化的能力。一种溶液被另一种溶液稀释时 pH 的变化将取决于两种溶液的起始 pH 和缓冲容量。Surakitbanharn 等[83]解释了当用 Sorensen 磷酸缓冲液稀释时，溶液起始 pH 和磷酸盐缓冲液的浓度对 pH 变化的影响。Myrdal 等[82]利用 Surakitbanharn 等建立的计算机模型作为选择缓冲液浓度和起始 pH 的方法，从而消除了弱碱性药物盐酸左依莫帕米沉淀的可能性。Myrdal 等指出，未进行缓冲的药物处方一进行稀释就发生沉淀，并在体内引发静脉炎。而进行缓冲的处方不会发生沉淀，也不会在体内引发静脉炎。

6. 通过 pH 控制增溶药物

在适当的条件下，可电离药物的溶解度可以通过调整溶液的 pH 而发生指数增长。从结构观点来看，通过控制 pH 能使之溶解的药物应该是具有较低 pK_a 的弱酸，或者是具有较高 pK_a 的弱碱。值得注意的是，pH 对溶解度的影响与药物的非离子形式的溶解度数值是相互独立的。换句话说，pK_a4.2 且溶解度为 1.0mg/mL 的的一种未解离酸，与另一个 pK_a 相同且溶解度为 0.001mg/mL 的非解离酸，溶解度在 pH 7.4 时都将增加 1001 倍。

尽管使用缓冲液有助于减少稀释时发生沉淀的风险，但是会有 pH、浓度和缓冲液类型的限制。生理相容性将取决于诸如给药途径、张力和接触时间等因素。其他因素，比如与 pH 有关化学稳定性，也必须考虑。表 4 列出了一些市售的注射剂产品和相关的缓冲液及其浓度、pH。

表 4 含有缓冲液的市售产品的部分列表[84～86]

药物（产品）	给药途径	缓冲液，浓度/%(w/v)	pH
美素必妥钠	静脉注射/复溶后静脉滴注	碳酸钠	9～11
盐酸氯丙嗪（Thorazine）	肌内注射/稀释后静脉注射	0.2%抗坏血酸	3.0～5.0
硫酸阿米卡星	肌内注射/稀释后静脉滴注	2.8%枸橼酸钠	3.5～5.5
乳酸几哌立登	静脉注射/肌内注射	1.4%乳酸钠	—
硫喷妥钠	复溶后静脉滴注	无水碳酸钠	10～11
盐酸肾上腺素（SusPhine）	皮下注射	1.0%抗坏血酸	—
盐酸依替卡因（Duranest）	渗透	枸橼酸	3～5
依托泊苷（VePesid）	静脉滴注	0.2%枸橼酸	3～4
盐酸甲氧明（二羟基去甲肾上腺素）	静脉注射/肌内注射	0.3%枸橼酸	3～5
盐酸甲基多巴乙酯（Aldomet ester HCl）	稀释后静脉滴注	0.3%枸橼酸钠 0.5%枸橼酸	3.5～4.2
盐酸纳布啡（Nubain）	静脉注射/肌内注射/皮下注射	2%枸橼酸盐	3.5
奋乃静	肌内注射/静脉注射/皮下注射	枸橼酸	4～5.5
盐酸氯氧草（利眠宁）	肌内注射/静脉注射	1.6%马来酸	3
拓扑替康（癌康定）	静脉滴注	2%酒石酸	2.5～3.5
地西泮（安定）	肌内注射/静脉注射	5.0%苯甲酸钠/苯甲酸	6～7
盐酸咪达唑仑	肌内注射/静脉注射		3
醋酸奥曲肽 84（善得定）	稀释后皮下注射/肌内注射/静脉注射	0.34%乳酸	4.2
马来酸丙氯拉嗪（Compazine）	稀释后肌内注射/静脉注射/静脉滴注	0.5%磷酸二氢钠 1.2%酒石酸钠	4～6
苯妥英钠（大仑丁）	肌内注射/静脉注射	氢氧化钠	10～12.3

Y

潜溶剂

增加非极性药物的溶解度，一个普遍且有效的方法是使用潜溶剂。潜溶剂系统是一个能与水混溶或者部分混溶的有机溶剂与水混合形成的改进的水溶液。潜溶剂具有一定程度的给予氢键和（或）接受氢键的能力，也有小的碳氢区域。由于水与水之间的相互作用减弱，所得到溶液的物理性质将介于纯有机溶剂与水之间。这样就提供了一个对非极性溶质更为有利的系统。

表 5 给出了水中经常使用的药物潜溶剂的一些物理性质。值得注意的是，表中增加了正辛醇作为参照，因为辛醇/水两相分配系数大的化合物水溶性不好。使用与正辛醇的物理性质较相似的潜溶体系，将很有可能使非极性药物溶解。下面的部分将证明，经由潜溶而实现的增溶作用取决于溶质与潜溶剂的物理性质。

表 5 一些常用潜溶剂的物理性质以及它们与水、正辛醇的对照

溶剂	$\log K_{o/w}$	溶解度参数	表面张力	介电常数
水	−4.00	23.4	72.0	81.0
甘油	−1.96	16.5	64.9	42.5
丙二醇	−0.92	12.6	37.1	32.0
PEG 400	−0.88	11.3	46.0	13.6
DMSO	−1.09	12.0	38.0	46.7
二甲醋酰胺	−0.66	10.8	35.7	37.8
乙醇	−0.31	12.7	22.2	24.3
正辛醇	2.94	10.3	20.5	10.31

1. 对于潜溶的数学描述

人们已经提出许多种方法来预测或描述某一特定的潜溶体系[86~102]对药物溶解度的影响。Yalkowsky 与他的同事建立了一个实用的潜溶模型[103~106]，假设混合溶剂体系是各种纯组分的线性组合。他们发现这个方法产生了对数的线性关系：

$$\log S_{mix} = \log S_w + \sigma f_c \qquad (18)$$

式中：非极性溶质的溶解度 S_{mix} 的对数将随着潜溶剂的分数 f_c 的增加而增加，斜率为 σ，截距为 $\log S_w$。在线性坐标中，可以观察到溶解度随着潜溶剂组的增加而发生指数增长。图 4 显示了增溶的线性和指数曲线。

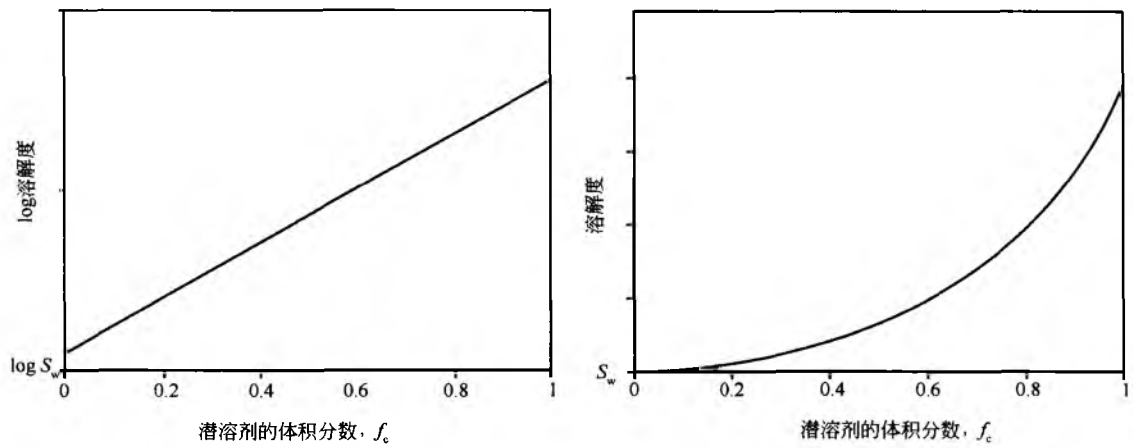


图 4 非极性药物的典型潜溶剂增溶曲线。左图为半对数坐标；右图为线性坐标

对于固体溶质，熔点只会影响到溶解度曲线的截距。特性溶解度与增溶曲线的斜率之间的独立性可由同分异构体苯并［a］芘；和芘来证明。图 5（左）表示苯并［a］芘和芘在乙醇/水体系中的增溶。

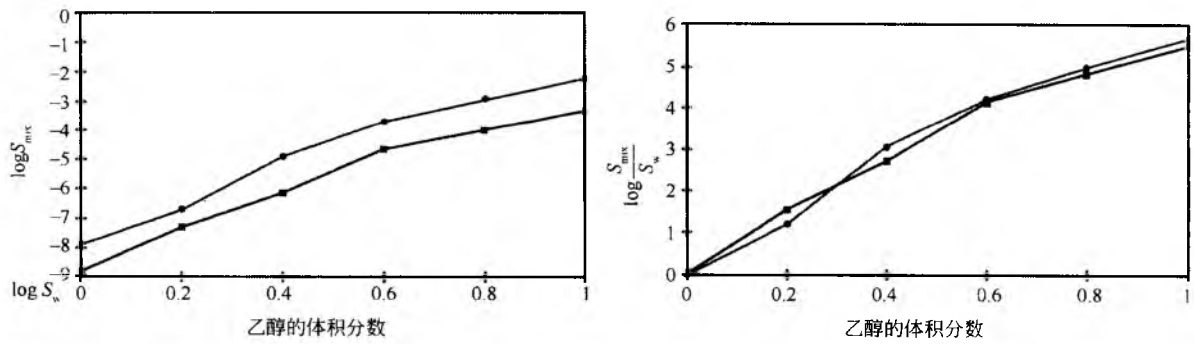


图 5　左图为苯并［a］芘（●）和芘（■）在乙醇-水混合物中的增溶曲线；右图为苯并［a］芘（●）和芘（■）在乙醇/水混合物中的相对溶解度（$\log S_{mix}/S_w$）

这两个化合物的 $\log K_{o/w}$（或是水溶液中的活性系数）可以认为相等，然而它们的熔点不同。苯芘吡的熔点是 179℃，芘的熔点是 273℃，因此，后者的适用特性溶解度较低。然而，二者的增溶曲线的斜率几乎一致，这是因为只有 σ 为活性系数的函数（$\log K_{o/w}$）。

既然特性溶解度不会直接影响溶解度曲线的斜率，那么可以很方便地将式（18）整理为

$$\log(S_{mix}/S_w) = \sigma f_c \qquad (19)$$

将 $\log(S_{mix}/S_w)$ 对 f_c 作图，使得溶解度曲线用特性溶解度校正，并且曲线通过半对数图上的原点。这样就方便不同药物之间、不同潜溶剂之间的比较。图 5（右）表示的是使用式（19）之后苯并［a］芘和芘的增溶曲线。

潜溶剂增溶一个给定溶质的能力会和溶质与潜溶剂的性质有关。对于某一给定的潜溶剂体系来说，增溶曲线的斜率 σ 取决于药物的极性和潜溶剂的极性，并且可以这样描述：

$$\sigma = s\log K_{o/w} + t \qquad (20)$$

式中：药物的极性用 $\log K_{o/w}$ 来表示，潜溶剂的极性与物理性质通过参数 s 和 t 来表示。

2. 增溶对溶质性质的依赖

如图 5 所示，同分异构体或者具有几乎一致的水中活性度系数（即相似的 $\log K_{o/w}$）的化合物，在给定的潜溶剂系统中，增溶曲线的斜率非常类似。整体溶解度的差异再一次归因于晶体对溶解度的贡献差异。

对于非极性溶质或是比所选潜溶剂极性更弱的溶质来说，溶解度通常遵循式（18）所描述的对数线性模型。增溶程度与溶质的极性直接相关。由式（20）可见，溶解度曲线的斜率 σ 与辛醇/水分配系数的对数（$\log K_{o/w}$）直接相关。图 6 给出了一系列氢化可的松化合物在丙二醇溶液中的数据。随着 $\log K_{o/w}$ 增加，溶解度曲线的斜率跟着增加。Li 等[107]也解释了非极性溶质在乙醇/水体系中的这种关系。在一个给定的潜溶剂系统中（即 s 和 t 为常数），随着 $\log K_{o/w}$ 增加，保持同样的趋势，增溶作用增加。对于极性最弱的化合物（$\log K_{o/w}$ 最大）来说，增溶作用接近若干个数量级。

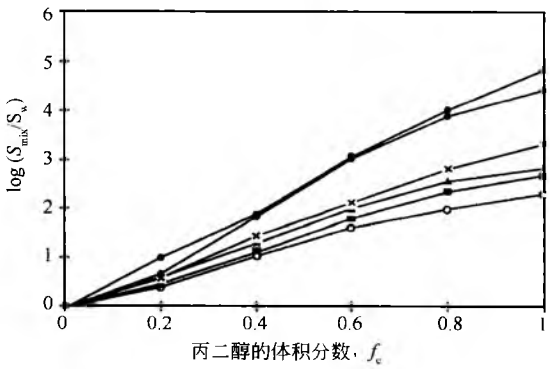


图 6　不同的氢化可的松在丙二醇/水混合物中的增溶。●氢化可的松乙酸酯；◆氢化可的松丙酸酯；×氢化可的松丁酸酯；▲氢化可的松戊酸酯；■氢化可的松己酸酯；○氢化可的松庚酸酯

随着 $\log K_{o/w}$ 减小，有机潜溶剂的增溶能力随之下降。对于中等极性或极性溶质（极性介于水与某一给定的潜溶剂之间）来说，加入某一有机潜溶剂，可以预期溶解度的增大很少。中等极性的溶质在一些极性相符的混合溶液中会有一个溶解度的最大值。在溶解度的最大值之后，曲线斜率变成负值，再增加任何潜溶剂将会使溶质的溶解度下降。中等极性溶质的增溶因子通常小于 5，这明显不如非极性溶质的增溶效果。

极性溶质的溶解度随着有机潜溶剂加入水中而减小。显然，潜溶剂不会用来增加极性溶质的溶解度，但重要的是要理解对于含有其他成分或辅料的处方来说，因非极性药物而使用潜溶剂可能会引起极性辅料的溶解度问题。如果是不溶的极性药物，再看一下式（6）将会有助于理解可能是晶体原因限制了溶解度。通常情况下确实如此，因为极性化合物有显著的极性官能团，比如氢键部分，它能产生很强的晶体结构。如果任意官能团都是酸性或碱性的，选择 pH 可能是最有效的使药物溶解的方法。随着碳氢基团被添加到母体结构上，同样的趋势将维持，给定的潜溶剂系统中（即 s 和 t 为常数）溶解度增加。对于极性最弱的化合物（$\log K_{o/w}$ 最大），溶解度接近 5～6 个数量级。

Y

3. 增溶作用对潜溶剂性质的依赖

当一种潜溶剂与水混合，水分子之间的氢键作用力减弱，这就形成了一个有利于非极性溶质溶解的溶剂系统。潜溶剂的非极性越强，潜溶剂/水系统的非极性也就越强，非极性药物的增溶效果也就越强。在评价潜溶剂系统时，除了考虑极性之外，考虑氢键的给予与接受能力也是有用的[108]。图 7 中，苯佐卡因溶解于不同的潜溶剂系统中，潜溶剂的极性与增溶作用之间存在明显的关系。潜溶剂的非极性越强，溶解度曲线的斜率越大。

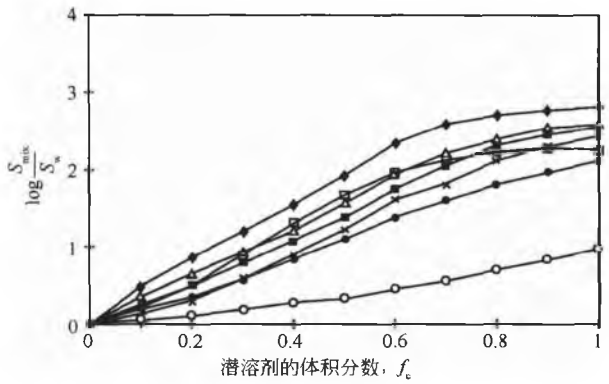


图 7 苯佐卡因的增溶。◆二甲基甲酰胺；△PEG 400；■PEG 200；□乙醇；×甲醇；●丙二醇；○甘油

4. 增溶曲线的斜率 σ 与溶质极性的关系

要认识到，潜溶剂的增溶作用并不是严格的遵循对数线性关系，这一点很重要。实际上，在潜溶剂的比例较低时，可以观察到微小的负偏差，而在潜溶剂的比例较高时，可以观察到向下弯曲的正偏差。一些研究者试图解释或预测这种行为[89~102]，然而，最简单也是最有用的依然是对数线性模型。对数线性模型的另一个优点在于，在乙醇/水系统中，只要两个数据点就可用来估计溶质的溶解度。

考虑到上述所观察到的潜溶剂系统的曲率，只考虑潜溶剂系统的末端斜率 σ，依然能够获得良好的相关性。利用对数线性方法（图 4），斜率仅仅是溶质在纯的潜溶剂中和在水中的溶解度差异。Morris 等[109]和 Li 等[107]已经证实了它的广泛适用。图 8 解释了溶解度曲线的斜率 σ 与 $\log K_{o/w}$ 的关系。增溶潜力的增加（σ 的增加）与计算出的 $\log K_{o/w}$ 直接相关。

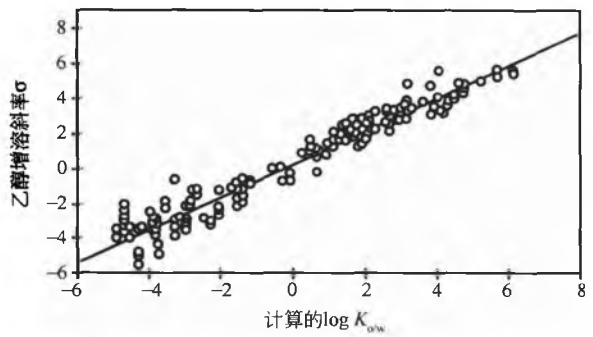


图 8 不同溶质在乙醇增溶体系中增溶斜率和计算的 $\log K_{o/w}$ 之间的关系[107]

近来，Millard 与 Yalkowsky 使用计算出的 $\log K_{o/w}$，通过 CLOGP[15]评价了几种潜溶剂系统。对于乙醇、丙二醇、PEG 400 与甘油潜溶剂系统而言，他们发现在溶解度曲线斜率和 $\log K_{o/w}$ 之间存在合理的相关性。表 6 给出了他们工作的一个摘要。

表 6 不同潜溶剂系统的溶解度曲线斜率 σ 与 $\log K_{o/w}$ [式 (20)] 的回归分析

潜溶剂	潜溶剂 $\log K_{o/w}$	σ	t	n	r^2	SE
乙醇	−0.31	0.93	0.38	120	0.96	0.53
丙二醇	−0.92	0.76	0.57	93	0.93	0.48
PEG 400	−0.88	0.73	1.19	25	0.77	0.62
甘油	−1.96	0.34	0.29	26	0.81	0.34

注：斜率 σ，截距 t，用于回归的化合物的数量 n，回归相关系数 r^2，标准偏差 SE。

从表 6 中可以清楚的看出，潜溶剂溶解作用的有效性（σ）与 $\log K_{o/w}$ 直接相关。极性最小的潜溶剂乙醇有最大的 σ 值，极性最大的潜溶剂甘油的 σ 值最小。

5. 多重潜溶剂

当使用一种潜溶剂增溶水不溶性药物，其类型和用量受到剂型的限制时，使用多重潜溶剂可能是有效的方法。多重潜溶剂对溶解度的影响可以通过展开式（18）以包括潜溶剂的线性添加来合理地近似，即：

$$\log S_{mix} = \log S_w + \sigma_1 f_{c1} + \sigma_2 f_{c2} + \sigma_3 f_{c3} \cdots\cdots \quad (21)$$

式中：下标 1、2、3 表示潜溶剂 1、2、3 的斜率和分数。Chien 等[111]发现式（21）完全代表甾体化物在混合溶剂中的溶解性。类似地，Pramar 等[112]发现螺内酯（图 9）在多重潜溶剂中的溶解性是存在对数线性关系的。Pramar 和 Das Gupta 的一些资料在图 10 中表示，显示了螺内酯在一些三元的溶剂系统中的溶解性。图 10 表示螺内酯的溶解性随着丙二醇或是甘油的量的增加（在给定 PEG 400 浓度的情况下）而几乎成线性的增长。所给的三元系统都包括 10%乙醇溶液。进一步的资料调查表明丙二醇作为增溶剂比甘油更有效。事实上，丙二醇的斜率几乎是甘油的 2 倍，非常类似于单一潜溶剂系统的结果（图 10）。

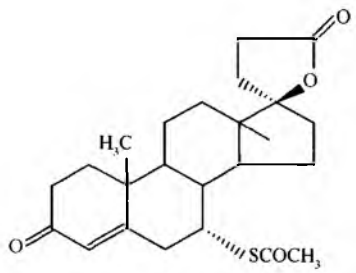


图 9 螺内酯的结构

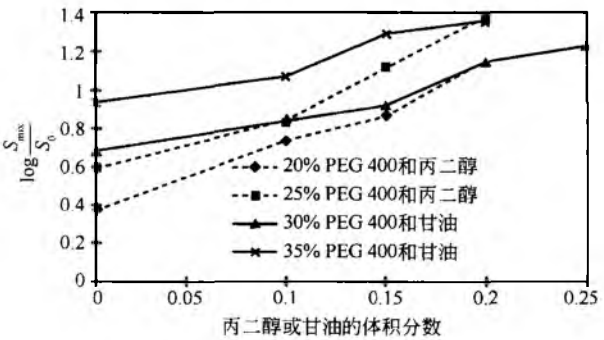


图 10 三元潜溶剂体系和螺内酯的增溶[112]。S_0 代表螺内酯在10%乙醇/水体系中的溶解度，图中数据为不同浓度的 PEG 400和不同体积分数的丙二醇或甘油

式（21）假设每种潜溶剂自己独立作用。当然并非所有情况均如此。事实上 Pramar 和 Das Gupta 的资料显示了非极性溶质增溶作用的协同影响。此外，一种增溶剂的使用可以用来增强另一种在水中部分混溶的潜溶剂的溶解性。Gupta 等[113]和 Riley[114]的资料中显示了多重潜溶剂在水中的增溶作用。

6. 通过潜溶剂使药物溶解

潜溶剂是一个强有力的工具，使用它可以增溶药物。当选择了一种潜溶剂，很明显任何溶质所能达到的增溶程度是与其油水分配系数成正比的。然而，与 pH 增溶一致，通过潜溶剂增溶是成对数关系的，因此存在稀释时发生沉淀的可能。

潜溶剂使用的潜在的限制是所需的潜溶剂的选择和用量。只有相对较少的有机潜溶剂在药物制剂上是公认安全的。Rubino[115]已经讨论过许多常用的潜溶剂的生物效应，如乙醇、丙二醇、甘油、聚甲醛和二甲基甲酰胺。潜溶剂的允许用量取决于药物剂型。表 7 中列举了一些含有潜溶剂的产品。新的安全的潜溶剂的引入大大地加强了利用潜溶剂来增强增溶作用的技术。然而，即使可用的潜溶剂的数量很有限，潜溶仍然是一种溶解水溶性较差药物的非常有价值的手段。

表 7 含有潜溶剂的一些注射产品举例[84~86]

药物（产品）	给药方式	潜溶剂的组成/%（w/v）
白消安（Busulfex）	稀释后静脉滴注	67% PEG 400 33% N，N-DMA
氯氮䓬（利眠宁）	稀释后静脉注射	20%丙二醇
地西泮（Valium）	肌内注射/静脉注射	10%乙醇 40%丙二醇
地高辛（Lanoxin）	肌内注射/静脉注射	10%乙醇 40%丙二醇
甲磺双氢麦胺（D. H. E）	肌内注射/静脉注射	6.1%乙醇 15%甘油
艾司洛尔盐酸盐	稀释后静脉注射	25%乙醇 25%丙二醇
依托泊苷（VePesid）	稀释后静脉滴注	30%乙醇 60%PEG 300
非诺多泮（Corlopam）	稀释后静脉注射	50%丙二醇
劳拉西泮（氯羟安定）	肌内注射/稀释后静脉注射	18%PEG 400 80%丙二醇
美法仑（美法兰）	稀释后静脉滴注	5%乙醇 60%丙二醇
硝酸甘油（Nitro-Bid）	稀释后静脉滴注	70%乙醇 4.5%丙二醇
戊巴比妥钠（Nembutal sodium）	静脉注射/稀释后肌内注射	10%乙醇 40%丙二醇
帕立骨化醇（Zemplar）	静脉注射	20%乙醇 30%丙二醇
苯妥英钠（大仑丁）	肌内注射/静脉注射	10%乙醇 40%丙二醇
肾上腺素（Sus-Phrine）	皮下注射	32.5%甘油
Robixin（美索巴莫）	肌内注射/稀释后静脉注射	50%PEG 300
氧四环素（土霉素）	肌内注射	67%～75%丙二醇
替尼泊苷（Vumon）	稀释后静脉滴注	42%乙醇+6%DMA

Y

表面活性剂

表面活性剂是具有明确的极性和非极性区域的分子，大多数的表面活性剂包括一个碳氢化合物片段（通常是以脂肪族长链的形式存在）与一个极性基团相连。极性基团可以是阴离子的（如羧酸盐、硫酸盐、磺酸盐）、阳离子的（如铵、三烃基铵或吡啶）、两性离子的（如甘氨酸或肉碱）或是非极性的（如聚乙二醇、甘油或糖类）。经典的表面活性剂的通常结构的以及不同的图表说明都在图 11 中阐释，非经典的表活剂的选择性结构在图 12 中阐释。虽然这些结构不包括简单的脂肪链和简单的极性头基，但它们都具有明确的极性和非极性区域。

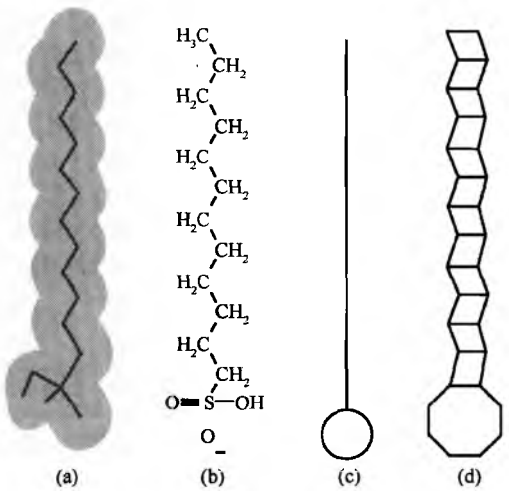


图 11 经典的表面活性剂结构示意图[1]。(a) 空间填充模型；(b) 化学结构图；(c) 简单的线-棒图；(d) 混合图

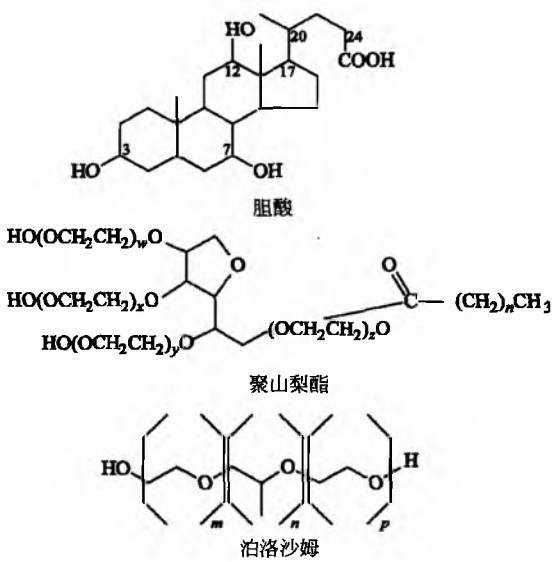


图 12 非经典的表面活性剂胆酸、聚山梨酯和泊洛沙姆的结构

由于这些极性和非极性区域的不同特性，表面活性剂趋向于在界面聚积和定向，因此每个区域都与不同的相相互作用。表面活性剂的极性部分与极性较大的结合（特别是水相），非极性部分将更多的保留在非极性溶剂中。在水中，随着表活剂浓度的增大到临界浓度之上时，它的分子本身就联合成一种称为胶束的可溶性结构。开始形成胶束的浓度称为临界胶束浓度（CMC）。

这些胶束通常是球状的，表面活性剂的非极性区域聚集在中央，被那些极性的区域的架子包围着，这些极性区域与水相相接触（图 13）。非极性药物（从水中挤出）能够位于胶束的中央。一个半极性的药物能够位于或是部分进入胶束中央和架子。因为胶束可溶于水，所以任何能够进入胶束的药物都能在水性环境中溶解。

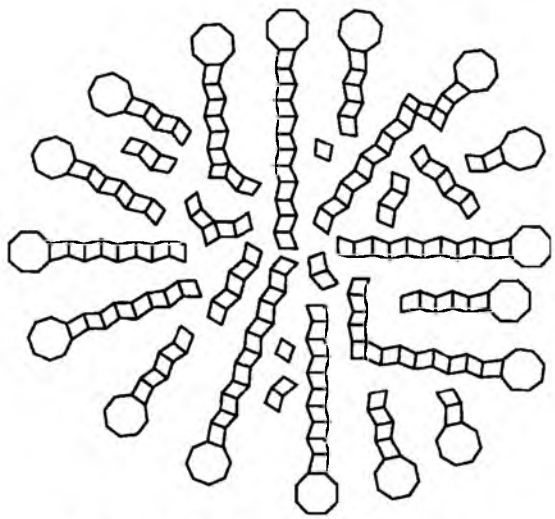


图 13 非极性药物在胶束结构核心的示意图

常见的表面活性剂增溶曲线见图 14。如果表面活性剂单体在溶液中不影响溶质的溶解度，那么溶质的浓度将保持不变（保持原来的溶解度，S_w）直到达到 CMC。在达到 CMC 之后，溶质的浓度将随表活剂（胶束）浓度的增加成线性增长。在表面活性剂系统中，溶质的总体溶解度 S_T 可用简单的数学式表述：

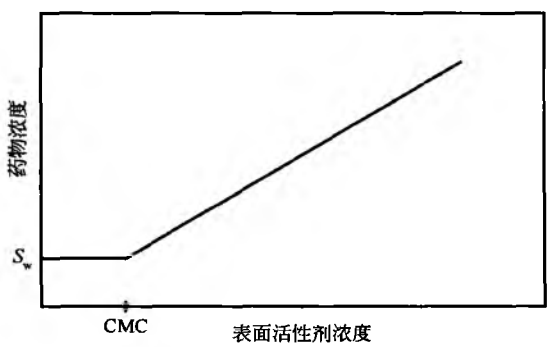


图 14 表面活性剂增溶的曲线

$$S_T = S_W + \kappa (C_{surf} - CMC) \quad (22)$$

式中：C_{surf}是表面活性剂的总浓度；κ是增溶容量；括号内的量代表胶束浓度。增溶容量反映了使一个溶质分子溶解所需要的表面活性剂分子的数量。式（22）的偏差通常是由于表面活性剂的浓度增加导致胶束的形状和大小发生改变造成的。

胶束是任意数量的单个表面活性剂分子或单体的动态聚集物。尽管这些分子互相缠绕，但是它们像液体分子一样不停的运动。因此，胶束内部可看作一个独立相，胶束溶液可看作是该相在水中的微分散体系。如果认为胶束是一个独立相，那么就可以根据溶质在胶束与水中的分配，方便的估算出增溶容量（κ）。胶束分配平衡常数 K_m 定义为胶束中溶质浓度 C_m 与水中溶质浓度 C_w 的比值：

$$K_m = C_m / C_w \quad (23)$$

已经表明，许多溶质的胶束/水分配平衡常数与正辛醇/水分配平衡常数具有相关性[116~121]。在 Azaa 等[116]总结的表 8 中，甲酚的胶束分配平衡常数随着甲基基团的增加而增加。Collet 等[119]，对于泊洛沙姆，一些苯甲酸衍生物的胶束分配平衡常数与它们的辛醇/水分配平衡常数成比例（表 9）。Tomida 等也指出[120]，对于苄泽 35，34 种单取代的苯甲酸中的大多数，其胶束分配平衡常数与它们在水中的溶解度成反比，而与它们的辛醇/水分配平衡常数成正比。Tomida 等[121]的数据进一步说明一些甾体激素（表 10）的辛醇/水分配平衡常数与胶束/水分配平衡常数具有平行性。

表 8　甲酚由聚丙托醇增溶后的胶束分配平衡常数[116]

溶质	$\log S_w$	K_M	$\log K_M$	CLOGP
苯酚	—	42.00	1.62	1.49
2-甲酚	−0.62	79.50	1.90	1.95
3-甲酚	−0.70	76.40	1.88	1.96
4-甲酚	−0.85	85.10	1.93	1.94
2，3-二甲酚	−1.43	169.00	2.23	2.42
2，4-二甲酚	−1.29	125.00	2.10	2.30
2，5-二甲酚	−1.54	197.00	2.29	2.33
2，6-二甲酚	−1.31	114.00	2.06	2.36
3，4-二甲酚	−1.41	151.00	2.18	2.23
3，5-二甲酚	−1.40	132.00	2.12	2.35

表 9　37℃时苯甲酸由泊洛沙姆 L64 增溶后的胶束分配平衡常数[119]

溶质	$\log S_w$	K_M	$\log K_M$	CLOGP
苯甲酸	−1.52	43.50	1.64	1.81
2-羟基苯甲酸	−1.76	83.00	1.92	2.38
3-羟基苯甲酸	−1.21	28.50	1.45	1.50
4-羟基苯甲酸	−1.23	30.80	1.49	1.58
4-氯苯甲酸	−3.31	277.00	2.44	2.65
4-溴苯甲酸	−3.54	445.00	2.65	2.86
4-碘苯甲酸	−3.95	678.00	2.83	3.02
4-硝基苯甲酸	−2.66	92.70	1.97	1.89
4-甲氧苯甲酸	−0.63	66.50	1.82	1.96

表 10　一些甾体由苄泽 35 增溶后的胶束分配平衡常数[121]

溶质	$\log S_w$	$\log K_M$	CLOGP
氢化可的松	−2.97	1.99	1.55
皮质酮	−3.24	2.27	1.94

续表

溶质	$\log S_w$	$\log K_M$	CLOGP
脱氧皮质甾酮	−3.45	2.60	2.90
可的松	−3.27	1.82	1.42
氢化可的松醋酶盐	−4.34	2.36	2.19
醋酸可的松	−4.21	2.31	2.10
脱氧皮质甾酮	−4.63	2.86	3.08
羟孕酮	−3.82	2.43	2.36
孕酮	−4.42	3.12	3.87
睾酮	−4.08	2.80	3.29
泼尼松龙	−3.18	2.04	1.61
醋酸泼尼松龙	−4.37	2.45	2.40
曲安酰	−3.68	1.98	1.03
倍他米松	−3.77	2.45	1.94
醋酸地基米松	−4.90	2.99	2.91
倍他米松-17-戊酸酯	−4.71	3.25	3.48

中等极性的溶质通常由非离子型表面活性剂的极性区域增溶。溶质被吸收进入聚氧乙烯形成的覆盖物而不是进入碳氢链。中等极性溶质的胶束分配平衡常数也取决于它们的辛醇/水分配平衡常数。然而，这些溶质主要被增溶于覆盖物中，因此表面活性剂最重要的性质是聚氧乙烯单元的数量，而表面活性剂的烷基链长度对于决定中等极性溶质的胶束分配平衡常数仅起次要作用。

溶解在聚乙二醇中的材料能被增溶于非离子型胶束表面的聚氧乙烯链中。Ismail 等[122]发现，巴比妥类在象山梨酯 20、40、60 和 80 中的胶束分配平衡常数是溶质取代基的函数，并且与该巴比妥酸盐的辛醇/水分配系数成正例。类似的，Ikeda 等[123]发现，聚氧乙烯十二烷基醚对烷基巴比妥类的增溶作用不取决于取代基中的碳原子数目。由于不同类型的聚山梨酯含有不同的脂肪基团，因此溶解性与聚山梨酯编号（即烷基链长度）关系不大，表明巴比妥类不是主要被增溶于胶束的碳氢部位。Gouda 等[124]表示，巴比妥类在聚氧乙烯硬脂酸盐中的溶解性与表面活性剂中的聚氧乙烯单元数成比例。Jafvert 等[125]基于表面活性剂的结构和溶质的结构，提出了下面的等式，用来预测有机物在非离子型表面活性剂中的摩尔增溶容量：

$$K_w = K_{o/w}(0.030 \sim L_1 - 0.0058 \sim L_2 - 0.0056 \sim L_3 + 0.0319 \sim L_4) \quad (24)$$

式中：L_1＝疏水尾上直链脂肪碳的数；L_2＝重复的乙氧基数；L_3＝在山梨坦基团上的碳原子数；L_4＝烷基苯基团上的总碳数。

这个等式将胶束分配平衡常数与辛醇/水分配平衡常数联系起来，同时也解释了表面活性剂的极性部分与非极性部分。

Alvarez-Nunez 等指出[126]，对于结构不同的多种重要的药用化合物，摩尔胶束分配系数与辛醇/水分配平衡常数的关系可用式（25）表示：

$$K_M = a\log K_{o/w} + b \quad (25)$$

对于聚山梨酯-80，式（25）可写为：

$$K_M = 0.92\log K_{o/w} - 0.07 \quad (26)$$

式（26）再通过式（27）来估计总溶解度：

$$S_{tot} = S_w[1 + C_{polysorbate\text{-}80} \times 10^{(0.92\log K_{o/w} - 0.07)}] \quad (27)$$

式中：$C_{polysorbate\text{-}80}$代表聚山梨醇-80 的浓度。

尽管式（24）与（26）非常有用，但必须小心使用，特别是对于具有一定程度两亲性的溶质。具有表面活性理化性质的溶质（即它们具有单独的极性与非极性区域），往往比预期的溶解性更好，因为它们能够在核/壳界面或是核/水界面聚集。本质上来说，弱的两亲性溶质的表现像是辅助表面活性剂，不但能与离子型表面活性剂形成胶束，还能与非离子型表面活性剂形成胶束。这样就会改变临界胶束浓度与胶束的大小。在大多说情况下，无论是基于分子大小，还是基于分配平衡常数，这都会导致比预期更大程度的溶解。

总之，无论是非极性表面活性剂还是中等极性的表面活性剂，都可以形成胶束增溶。由于对表面活性剂能够实际应用的性质有限制，同时有生物约束因素的存在，胶束增溶对于小剂量的处方更具有典型的优势。尽管有大量的阴离子型、阳离子型和非离子型表面活性剂可用作增溶剂[128~131]，只有聚山梨酯-80 和 Cremephor EL 以足够的量用于注射剂中。表 11 列出了一些含有表面活性剂的注射剂处方。值得注意的是，已有观察表明，使用 Cremephor EL 的患者有不良临床事件的发生。

表 11 含有表面活性剂的部分产品举例[84~86]

药物醇（产品）	给药方式	表面活性剂的组成/%(w/v)
紫杉醇（红杉醇）	稀释后静脉滴注	51% Cremephor EL
戊柔比星（Valstar）	稀释后静脉滴注	50% Cremephor EL
盐酸氯氮䓬（利眠宁）	肌内注射/静脉注射（稀释）	4% 聚山梨酯-80
环孢素（山地明）	稀释后静脉滴注	65% Cremephor EL
依托泊苷（VePesid）	稀释后静脉滴注	8% 聚山梨酯-80
胺碘酮（可达龙）	稀释后静脉滴注	10%聚山梨酯-80

配合作用

配合作用是指两个或更多的药物分子之间缔合，形成有确定的化学计量关系、非键合的实体。对于增加药物在水性介质中的溶解度最有用的两种配合作用是堆叠与包埋。堆叠配合物是通过芳香族分子的平面区域的重叠交错而形成．包合配合物是通过一个分子的非极性区域插入另一分子（或分子团）的空洞而形成。

对于某一个 1∶1 的配合物，其平衡常数 $K_{1:1}$ 的数学描述可以定义为

$$K_{1:1} = [SL]/[S][L] \quad (28)$$

式中：S 是游离溶质的浓度；L 是游离配体的浓度；[SL] 是溶质/配体配合物的浓度。平衡常数通常也认为是稳定常数或是配合常数。如果需用两个配体分子与一个溶质分子配合，则配合常数定义为：

$$K_{1:2} = [SL_2]/[S][L]^2 \quad (29)$$

对于形成 1∶1 配合物的溶质来说，溶质的总体溶解度 S_T 为：

$$S_T = S_w + [SL] \quad (30)$$

式中：S_w 是溶质在水中的特性溶解度。类似的，体系中配体的总浓度 $[L^{tot}]$ 为：

$$[L^{tot}] = [L] + [SL] \quad (31)$$

结合式（28）、（30）与（31），给出 1∶1 配合物的溶解度的通用式：

$$S_T = S_w + [K_{1:1}S_w/(1 + K_{1:1}S_w)]\,L^{tot} \quad (32)$$

式中：截距表示溶质在水中的溶解度。式（32）表明了溶质的溶解度随着配体浓度的增加而线性增加，斜率 $\sigma_{complex}$ 为：

$$\sigma_{complex} = [K_{1:1}S_w/(1 + K_{1:1}S_w)] \quad (33)$$

故稳定常数为

$$K_{1:1} = \sigma_{complex}/[S_w(1 - \sigma_{complex})] \quad (34)$$

由此可见，对于一个配体分子能够使一个溶质分子溶解的强配合物来说，随着 1∶1 配合物稳定常数的增加，斜率也会增加，直到斜率值达到某一值。图 15 中，曲线的起始段表明了这一点。这一线性段将会继续，直至达到配合物自身的溶解度，在这一点，溶质的总体溶解度保持恒定，曲线的中间段表明了这一点。坪值与先前描述的盐的最大溶解度相类似。继续加入配合剂，会导致游离溶质浓度的降低，以及曲线在纯配合物的溶解度时不再增加，图 15 的曲线末段说明了这一点。

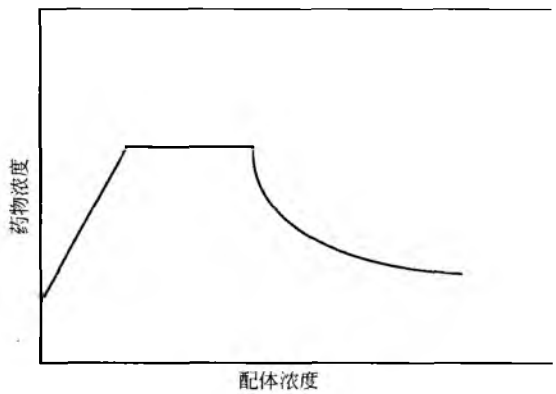


图 15 配合物的总增溶曲线

一个溶质分子与两个配体分子配合的溶解度曲线要比图 15 表示的要复杂。如果第二个配体的配合常数明显低于第一个配体，那么将在较低的配体浓度时形成 1∶1 配合物。该配合物将与第二个配体结合形成 2∶1 配合物。假设后者比前者更易溶解，那么溶解曲线将有两个不同的斜率。如果每个配体与溶质配合的能力相等，那么它们将同时配合，从而形成向上凸起的溶解曲线。

根据式（32），决定溶质增溶程度的因素是配合常数和溶质、配体和配合物的溶解度。因此，对于水性介质中的溶质溶解最有用的配体是高度水溶性的，并与溶质形成可溶性配合物。

1. 自缔合与堆叠配合

非极性部分往往被水的强氢键作用从水中挤出，这样就通过碳氢部分的聚集使得一些分子与水的接触最小。这种聚集常常发生在分子中大平面的非极性区域。就像胶束可能是纯化的，或者是混合的一样，堆叠配合物也可能是同质的，也可能是混合的。前者称为自缔合作用，后者被称为配合作用。图 16 列出了通过堆叠而在水性介质中相互作用的一些物质的例子。

Higuchi 等[132]发现，含有芳香酸或是酰胺的化合物与带有芳香胺的化合物（例如图 16 的第二和第三行所描述的那些化合物）之间形成的配合物，一致地都比由单一化合物形成的配合物具有更高的稳定性常数。已经有人做过大量的尝试，试图定量描述溶质与配体的化学结构跟它们形成配合物的能力之间的相关性[132~137]。

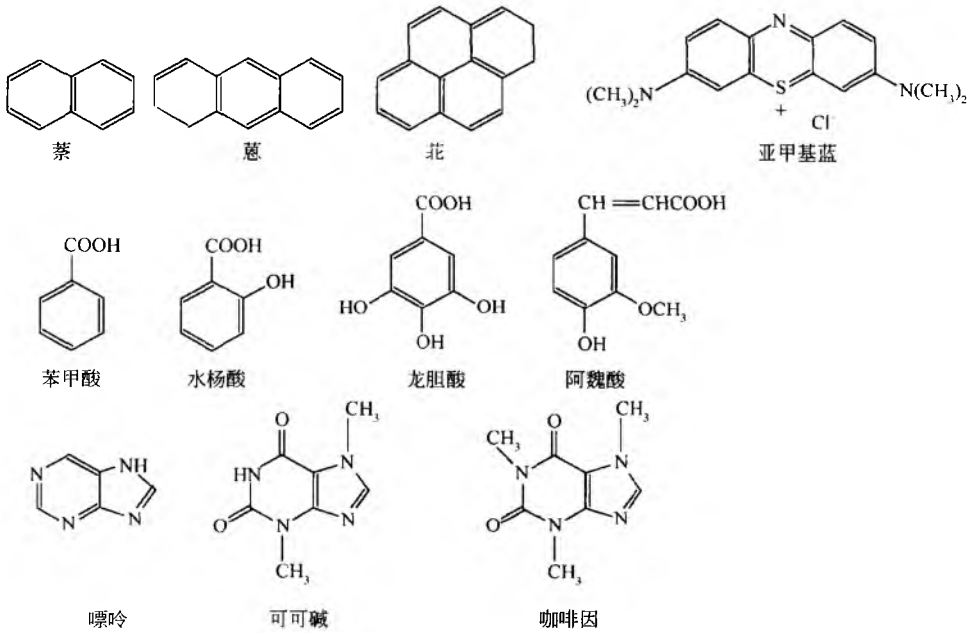


图 16 已知能形成堆叠配合物的部分化合物

2. 包合配合物

包合配合物是通过将一个非极性分子或分子的非极性区域（称为客分子）包入另一个分子或分子基团（称为主分子）的非极性空腔中形成的。当客分子进入主分子中之后，二者的非极性区与水的接触减少。因此，包合现象是驱动力与产生胶束化作用、自缔合作用和堆叠作用的一致；即非极性成分从水中的挤压。

对于包合配合物来说，主要的结构要求是客分子能够适合地进入主分子的空腔。主分子的空腔必须足够大从而适应客分子，这个空腔又要足够小以使水分子排出，这样才能使水与主、客分子之间的非极性区域的接触减小。

使用最普遍的主分子是环糊精。葡萄糖的这些环状低聚物在水中相对可溶，而且有足够大的空腔接受普通药物分子的非极性部分。天然存在的环糊精含有 6、7、8 个吡喃葡萄糖单元，分别被定义为 α、β、γ。如图 17 表示，其中的“G”代表一个吡喃葡萄糖单元。改性后的环糊精在一个或多个吡喃葡萄糖单元上具有一个或更多个羟基。较普遍的改性是利用烷基或者羟烷基，或者利用阴离子或阳离子官能团。许多这样的改性环糊精比那些天然存在的前体更易溶解[138~140]。

环糊精中空腔的大小是决定哪些客溶质分子最容易被接纳形成配合物的主要因素。一般来说，烷基基团能很好的适应 α-环糊精的空腔，β-环糊精最适合接纳单个的芳香环，γ-环糊精具有足够大的空腔来适应像苯芘吡这样较大的分子。图 18 显示了上述这些以及其他一些代表性的包合配合物。

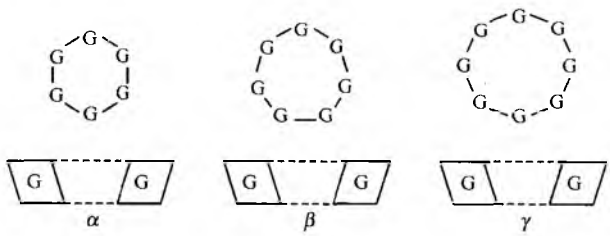


图 17 天然的 α-、β-、γ-环糊精两个角度的示意图

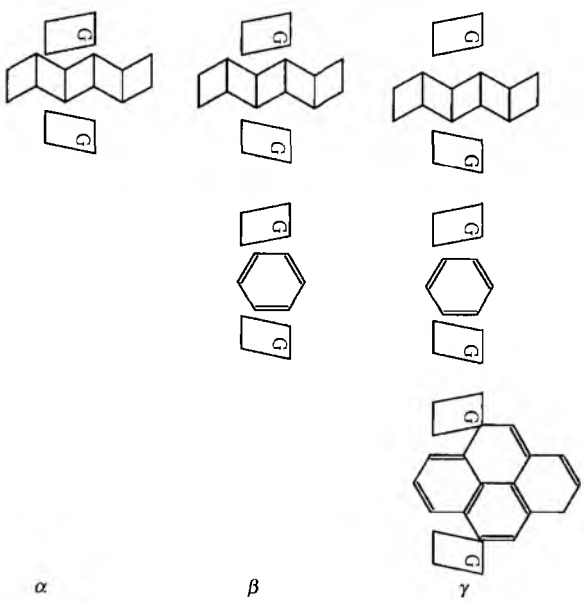


图 18 α-、β-、γ-环糊精分别包合戊烷、苯和芘的示意图

一个环糊精分子使得一个溶质分子增溶的程度取决于若干性质。首先，溶质分子必须有显著的非极性部分，以便能够从水中被挤压出来并进入环糊精的空腔内。某一给定环糊精的内径是固定的，因此分子的重要部分（或者整个分子）必须适合进入环糊精。分子一旦进入内部空腔，不但分子合适，而且决定配合物强度的两个分子间的作用力也合适。表 12 给出了一些化合物的稳定性常数。表格中上三分之一的化合物含有脂肪链，α-环糊精能够优先使其溶解；而表格中部的那些化合物含有芳香环，β-环糊精能够最好地使其溶解；表格中下三分之一地化合物含有稠环，γ-环糊精能够最好地使其溶解。

表 12 α-、β-和 γ-环糊精配合物的表观稳定常数[1]

溶质	α	β	γ
1-丁醇	89	16	
1-辛醇	6309	1479	
卡莫氟	1200	670	180
前列腺素 E1	1430	1700	530
对壬基羟苯酯	4558	4327	
对癸基羟苯酯	4236	3306	
对辛基羟苯酯	3747	3920	
对乙基氨基苯甲酸酯	290	500	
对甲基羟苯酸酯	218	870	
对乙基羟苯酸酯	178	1055	
苯巴比妥	30	1400	110
苯妥英	90	1120	120
蒽	75	2000	220
菲	16	1500	770
苯并蒽	88	3225	605
芘	148	543	1125
苯并［a］芘	173	2219	63 245
曲委盐长	121	2370	9920
曲安奈德	256	3230	26 100
曲安西尼	300	3530	12 100
地塞米松	169	4660	26 600
醋酸地塞米松	316	9560	37 300
洋地黄毒苷配基	1700	130 000	640 000
洋地黄毒苷	350	37 000	78 000

Seo 等[141]指出了螺内酯的稳定常数与整体溶解度依赖于环糊精的环的大小。从图 19 给出的数据可以看出，对于相对较大的螺内酯分子（图 9）来说，稳定常数随着主分子空腔增大而增大，通过线性斜率的增加反映了这一点。用β-环糊精包合得到了最大溶解度最小，它在三种环糊精中溶解度最低[142]。

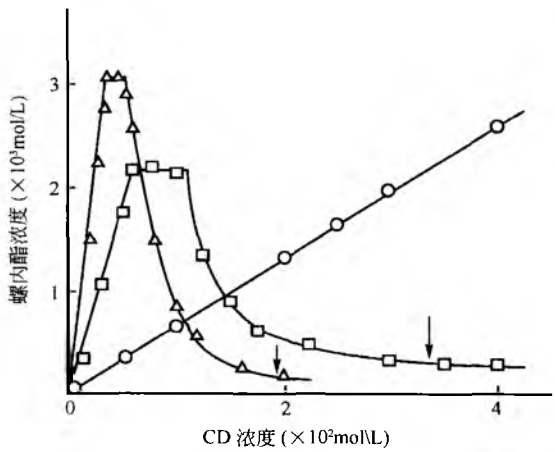


图 19 螺内酯溶解度与环糊精及其浓度的关系[14]
○α-环糊精；□β-环糊精；△γ-环糊精

正如先前讨论的并在图 19 显示的，天然存在的环糊精的一个显著局限性在于它们有限的溶解度。基于这一点和其他物理性质的局限，人们以环糊精为基础制备了大量的衍生物[143~147]。这些化合物中研究最多的是羟丙基 β-环糊精（HP-β-CD）与 β-环糊精的硫代丁基醚（SBE-β-CD）。这些化合物在水中可溶，可以高浓度使用。Pitha 等[148]研究了多种化合物使用高浓度 HP-β-CD 的情况，发现可以在很大范围内使溶解度增加。表 13 给出了 Pitha 等的研究数据。SBE-β-CD 也显示出良好的配合物特征。表 14 列出了所选择的一些化合物在注射用 SBE-β-CD 溶液中的溶解度有所增加。表 13 与表 14 给出的所选数据对于通过配合作用能够达到的实际溶解度范围给出了很好的解释。

表 13 使用高浓度的 HP-β-CD 后溶解度的增加[148]

溶质	HP-β-CD/%	溶解度的增加
雌三醇	50	13 666
雌二醇	40	7000
孕酮	40	2266
螺内酯	40	1400
睾酮	40	1461
地高辛	50	971
地塞米松	50	240
氯噻酮	50	87.5
苯妥英	50	57
呋噻米	50	24
硝酸甘油	40	8.3
对乙酰氨基酚	50	6
阿扑吗啡	50	5.8
茶碱	50	1.3

Y

表 14 使用 0.1mol/L SBE-β-CD 后溶解度的增加[149]

溶质	溶解度的增加
睾酮	2020
泼尼松龙醋酸盐	426
地塞米松	208
氨苯砜	189
泼尼松龙	106
甲泼尼龙	88
氢化可的松	87
甲萘醌	69
苄基鸟嘌呤	68
氯霉素	8

3. pH 与配合作用的联合应用

pH 对于通过配合作用增溶的影响完全取决于给定的溶质与配体。Tinwalla 等[150]发现，联合利用电离作用与配合作用是增加溶解度的一种有力方法。借助 HP-β-CD，使用 pH 与配合作用，能够显著增加噻唑苯并咪唑的衍生物 TBI（图 20）的溶解度。

Li 等[151,152]利用一个数学表达式解释了 pH 与配合作用对溶解度的联合影响。无论是配体还是溶质，如果随着 pH 而电离，稳定性常数将发生典型的下降。然而，稳定常数即使下降了，溶解度有时还会增大。对于 TBI 的质子化形式，稳定配合物的稳定常数比中性配合物几乎小 13 倍，然而前者依然能够使溶解度增加 3 倍。

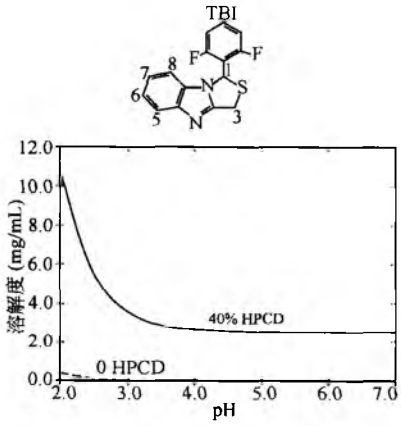


图 20 TBI（pK_a3.55）的溶解度与 pH 和 40%HP-β-CD 溶液的关系[150]

4. 通过配合作用增加溶解度

堆叠配合物的总体特征是它的平面性，可以使用的配体是很广泛的。当然，不是所有可能的配体都能被接受。一些形成堆叠配合物的平面分子（图 16）具有药理活性。其他诸如对羟基苯甲酸酯或苄醇可以用作抗微生物剂。而且，加入这些有机物也能够促进通过潜溶使溶解度增加。已经证明配合作用对于具有独立碳氢链得化合物是有用的。具有大的碳氢链或是多个碳氢链的溶质通过配合作用能够最有效的增加溶解度，但是形状要求必须满足，以便发生配合作用。表 15 中给出了一些注射剂产品中使用到的辅料的简短列表。

表 15 一些含有配合物的注射剂举例[84~86]

药物（产品）	给药途径	表面活性剂的组成/%(w/v)
前列腺素 E1（Edex）	复溶后腔内注射	α 环糊精
伊曲康唑（sporanox）	稀释后静脉滴注	40%羟丙基-β环糊精
甲乙酶齐拉两酮（三期临床）	肌内注射/皮下注射	硫代丁基醚-β环糊精氢
泼尼松龙磷酸钠（Hydeltrasol）	稀释后静脉滴注	2.5%烟酰胺参考文献

参 考 文 献

1. Yalkowsky, S. H. Solubility and Solubilization in Aqueous Media; Oxford University Press: New York, 1999.
2. Liu, R. Water-Insoluble Drug Formulations; Interpharm Press: Englewood, CO, 2000.
3. Prausnitz, J. M.; Lichtenthaler, R. N.; Gomes de Azevedo, E. Molecular Thermodynamics of Fluid-Phase Equilibria, 2nd Ed., Prentice-Hall: New Jersey, 1986.
4. Yalkowsky, S. H. Ind. Eng. Chem. Fundam. 1979, 18, 108—111.
5. Myrdal, P. B.; Ward, G. H.; Dannenfelser, R-M.; Mishra, D.; Yalkowsky, S. H. Chemosphere 1992, 24, 1047—1061.
6. Myrdal, P. B.; Ward, G. H.; Simamora, P.; Yalkowsky, S. H. SAR and QSAR in Environ. Res. 1993, 1, 53—61.
7. Myrdal, P. B.; Manka, A. M.; Yalkowsky, S. H. Chemosphere 1995, 30, 1619—1637.
8. Lee, Y-C.; Myrdal, P. B.; Yalkowsky, S. H. Chemosphere 1996, 33, 2129—2144.
9. Pinsuwan, S.; Myrdal, P. B.; Lee, Y-C.; Yalkowsky, S. H. Chemosphere 1997, 35, 2503—2513.
10. Slusher, J. T. Fluid Phase Equilib. 1988, 153, 45—61.
11. Ruelle, P. J. Org. Chem. 1999, 12, 769—786.
12. Abraham, M. H.; Le, J. J. Pharm. Sci. 1999, 88, 868—880.
13. Lin, S-T.; Sandler, S. I. AIChE J. 1999, 45, 2606—2618.

14. Yalkowsky, S. H.; Valvani, S. C. J. Pharm. Sci. 1980, 69, 912—922.
15. ClogP®, version 2. 2. 02b, Bio-Byte Corporation: 1997.
16. Byrn, S. R.; Pfeiffer, R. R.; Stowell, J. G. Solid State Chemistry of Drugs, 2nd Ed.; SSCI, Inc.: West Lafayette, IN, 1999.
17. Noyes, A. A.; Whitney, W. R. J. Am. Chem. Soc. 1897, 19, 930—934.
18. Hamlin, W. E.; Northam, J. I.; Wagner, J. G. J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1651—1653.
19. Yoshihashi, Y.; Kitano, H.; Etsuo, Y.; Terada, K. Int. J. Pharm. Sci. 2000, 204, 1—6.
20. Nicklasson, M.; Brodin, A. Int. J. Pharm. Sci. 1984, 18, 149—156.
21. Allen, D. J.; Kwan, K. C. J. Pharm. Sci. 1969, 58, 1190—1193.
22. Goldberg, A. H.; Gibaldi, M.; Kanig, J. L. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 487—472.
23. Kaneniwa, N.; Watari, N. Chem. Pharm. Bull. 1977, 25, 867—875.
24. Florence, A. T.; Salole, E. G. J. Pharm. Pharmac. 1976, 28, 637—642.
25. Florence, A. T.; Salole, E. G.; Stanlake, J. B. J. Pharm. Phamac. 1974, 26, 479—480.
26. Ikekawa, A.; Hayakawa, S. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1981, 54, 2587—2591.
27. Picolo, T.; Sakr, A. Pharm. Ind. 1984, 46, 1277—1279.
28. Pereira De Almeida, L.; Simoes, S.; Brito, P.; Portugal, A.; Figueiredo, M. J. Pharm. Sci. 1997, 86, 726—731.
29. Mosharraf, M.; Sebhatu, T.; Nystrom, C. Int. J. Pharm. 1999, 177, 29—51.
30. Aguiar, A. J.; Krc, J.; Kinkel, A. W.; Samyn, J. C. J. Pharm. Sci. 1967, 56, 847—853.
31. Aguiar, A. J.; Zelmer, J. E. J. Pharm. Sci. 1969, 58, 983—987.
32. Kato, Y.; Kohetsu, M. Chem. Pharm. Bull. 1981, 29, 268—272.
33. Yokoyama, T.; Umeda, T.; Kuroda, K.; Kuroda, T.; Asada, S. Chem. Pharm. Bull. 1981, 29, 194—199.
34. Kokubu, H.; Morimoto, K.; Ishida, T.; Inoue, M.; Morisaka, K. Int. J. Pharm. 1987, 35, 181—183.
35. Kuroda, K.; Yokoyama, T.; Umeda, T.; Takagishi, Y. Chem. Pharm. Bull. 1978, 26, 2565—2568.
36. Umeda, T.; Matsuzawa, A.; Ohnishi, N.; Kuroda, T. Chem. Pharm. Bull. 1984, 32, 1637—1640.
37. Suleiman, M. S.; Najib, N. M. Int. J. Pharm. 1989, 50, 103—109.
38. Himmelreich, M.; Rawson, B. J.; Watson, T. R. Austrail. J. Pharm. Sci. 1977, 6, 123—125.
39. Clements, J. A.; Popli, S. D. Can. J. Pharm. Sci. 1973, 8, 88—92.
40. Pearson, J. T.; Varney, G. J. Pharm. Pharmacol. 1973, 25, 62—70.
41. Wells, J. I. Pharmaceutical Preformulation. The Physicochemical Properties of Drug Substances; Ellis Horwood, Ltd.: United Kingdom, 1988; 94—95.
42. Poole, J. W.; Bahal, C. K. J. Pharm. Sci. 1968, 57, 1945—1948.
43. Suryanarayanan, R.; Mitchell, A. G. Int. J. Pharm. 1985, 24, 1—17.
44. Fukumori, Y.; Fukuda, T.; Yamamoto, Y.; Shigitani, Y.; Hanyu, Y.; Takeuchi, Y.; Sato, N. Chem. Pharm. Bull. 1983, 31, 4029—4039.
45. Jozwiakowski, M. J.; Nguyen, N.-A. T.; Sisco, J. M.; Spancake, C. E. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 193—199.
46. Buxton, P. C.; Lynch, I. R.; Roe, J. M. Int. J. Pharm. 1988, 42, 135—143.
47. Sekiguchi, K.; Kanke, M.; Nakamura, N.; Tsuda, Y. Chem. Pharm. Bull. 1973, 21, 1592—1600.
48. Kozje, F.; Golic, L.; Zupet, P.; Palka, E.; Vodopivec, P.; Japelj, M. Acta Pharm. Jugosl. 1985, 35, 275—281.
49. Abdallah, O.; El-Fattah, S. A. Pharm. Ind. 1984, 46, 970—971.
50. Rodriguez-Hornedo, N.; Lechuga-Ballesteros, D.; Wu, H.-J. Int. J. Pharm. 1992, 85, 149—162.
51. Mentasti, E.; Rinaudo, C.; Boistelle, R. J. Chem. Engin. Data 1983, 28, 247—251.
52. Ghosh, S.; Grant, D. J. W. Int. J. Pharm. 1995, 114, 185—196.
53. Matsuda, Y.; Tatsumi, E. J. Pharmacobio-Dyn. 1989, 12, 38.
54. Toffoli, F.; Avico, U.; Signoretti, CiranniE.; Di Francesco, R.; Di Palumbo, V. S. Ann. Chem. 1973, 63, 1—4.
55. Corrigan, O. I.; Holohan, E. M.; Sabra, K. Int. J. Pharm. 1984, 18, 195—200.
56. Otsuka, M.; Kaneniwa, N. Chem. Pharm. Bull. 1983, 31, 230—236.
57. Higuchi, W. I.; Lau, P. K.; Higuchi, T.; Shell, J. W. J. Pharm. Sci. 1963, 52, 150—153.
58. Doherty, C.; York, P. Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15, 1969—1987.
59. Mullins, J. D.; Macek, T. J. J. Pharm. Sci. 1960, 49, 245—248.
60. Fukuoka, E.; Makita, M.; Yamamura, S. Chem. Pharm. Bull. 1987, 35, 2943—2948.

Y

Y

61. Giron, D. Thermochim. Acta. 1995, 248, 1—59.
62. Cohn, E. J.; McMeekin, T. L.; Edsall, J. T.; Weare, J. H. J. Am. Chem. Soc. 1934, 56, 2270—2282.
63. Tsuji, A.; Nakashima, E.; Hamano, S.; Yamana, T. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 1059—1066.
64. Tsuji, A.; Nakashima, E.; Yamana, T. J. Pharm. Sci. 1979, 68, 308—315.
65. Tsuji, A.; Nakashima, E.; Nishide, K.; Deguchi, Y.; Hamano, S.; Yamana, T. Chem. Pharm. Bull. 1983, 31, 4057—4069.
66. Garren, K. W.; Pyter, R. A. Int. J. Pharm. 1990, 63, 167—172.
67. Chowhan, Z. T. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 1257—1260.
68. Kramer, S. F.; Flynn, G. L. J. Pharm. Sci. 1972, 61, 1896—1904.
69. Avdeef, A. Pharm. Pharmacol. Commun. 1998, 4, 165—178.
70. Streng, W. H.; Hsi, S. K.; Helms, P. E.; Tan, H. G. H. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1679—1684.
71. Streng, W. H. Int. J. Pharm. Sci. 1999, 186, 137—140.
72. Berge, S. M.; Bighley, L. D.; Monkhouse, D. C. J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1—19.
73. Bighley, L. D.; Berge, S. M.; Monkhouse, D. C. Salt Forms of Drugs and Absorption. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 13, 453—499.
74. Agharkar, S.; Lindenbaum, S.; Higuchi, T. J. Pharm. Sci. 1976, 65, 747—749.
75. Gould, P. L. Int. J. Pharm. 1986, 33, 201—217.
76. Morris, K. R.; Fakes, M. G.; Thakur, A. B.; Newman, A. W.; Singh, A. K.; Venit, J. J.; Spagnuolo, C. J.; Serajuddin, A. T. M. Int. J. Pharm. 1994, 105, 209—217.
77. Spurlock, C. H. J. Parent. Sci., Tech. 1986, 40, 70—72.
78. Jusko, W. J.; Gretch, M.; Gassett, R. J. Am. Med. Assoc. 1973, 225, 176.
79. Yalkowsky, S. H.; Valvani, S. C.; Johnson, B. W. J. Pharm. Sci. 1983, 72, 1014—1017.
80. Ward, G. H.; Yalkowsky, S. H. J. Parent. Sci. Tech. 1993, 47, 161—165.
81. Jamerson, B. D.; Dukes, G. E.; Brouwer, K. L. R.; Donn, K. H.; Massenheimer, J. A.; Powel, J. R. Pharmacotherapy 1994, 14, 47—52.
82. Myrdal, P. B.; Simamora, P.; Surakitbanharn, Y.; Yalkowsky, S. H. J. Pharm. Sci. 1995, 84, 849—852.
83. Surakitbanharn, Y.; Simamora, P.; Ward, G. H.; Yalkowsky, S. H. Int. J. Pharm. 1994, 109, 27—33.
84. Strickley, R. G. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1999, 53, 324—349.
85. Strickley, R. G. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 2000, 54, 69—96.
86. Strickley, R. G. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 2000, 54, 152—169.
87. Paruta, A. N.; Sciarrone, B. J.; Lordi, N. G. J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1325—1333.
88. Sorby, D. L.; Liu, G.; Horowitz, K. N. J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1811—1813.
89. Martin, A.; Newburger, J.; Adjei, A. J. Pharm. Sci. 1980, 69, 487—490.
90. Martin, A.; Paruta, A. N.; Adjei, A. J. Pharm. Sci. 1981, 70, 1115—1120.
91. Williams, A.; Amidon, G. L. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 9—13.
92. Williams, A.; Amidon, G. L. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 14—17.
93. Williams, A.; Amidon, G. L. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 18—23.
94. Ochsner, A. B.; Belloto, R. J., Jr.; Sokoloski, T. D. J. Pharm. Sci. 1985, 74, 277—282.
95. Acree, W. E., Jr.; McCargar, J. W.; Zvaigzne, A. E.; Teng, I. L. Phys. Chem. Liq. 1991, 23, 27—35.
96. Escalera, J. B.; Bustamante, P.; Martin, A. J. Pharm. Pharmacol. 1994, 46, 172—176.
97. Barzegar-Jalali, M.; Hanaee, J. Int. J. Pharm. 1994, 109, 291—295.
98. Li., A.; Andren, A. W. Env. Sci. Tech. 1995, 29, 3001—3006.
99. Barzegar-Jalali, M.; Jouyban-Gharamaleki, A. Int. J. Pharm. 1997, 152, 247—250.
100. Jouyban-Gharamaleki, A.; Barzegar-Jalali, M.; Acree, W. E., Jr. Int. J. Pharm. 1998, 166, 205—209.
101. Jouyban-Gharamaleki, A.; Acree, W. E., Jr. Int. J. Pharm. 1998, 167, 177—182.
102. Jouyban-Gharamaleki, A.; Valaee, L.; Barzegar-Jalali, M.; Clark, B. J.; Acree, W. E., Jr. Int. J. Pharm. 1999, 177, 93—101.
103. Yalkowsky, S. H.; Amidon, G. L.; Zografi, G.; Flynn, G. L. J. Pharm. Sci. 1972, 64, 48—52.
104. Yalkowsky, S. H.; Valvani, S. C.; Amidon, G. L. J. Pharm. Sci. 1976, 65, 1488—1495.
105. Yalkowsky, S. H.; Roseman, J. T. Solubilization of Drugs. Techniques of Solubilization of Drugs; Yalkowsky, S. H., Ed.; Ch. 3 Marcel Dekker, Inc.: New York, 1981.
106. Yalkowsky, S. H.; Rubino, J. T. J. Pharm. Sci. 1985,

74, 416—421.
107. Li., A.; Yalkowsky, S. J. Pharm. Sci. 1994, 83, 1735—1740.
108. Rubino, J. T.; Yalkowsky, S. H. Pharm. Res. 1987, 4, 220—230.
109. Morris, K. R.; Abramowitz, R.; Pinal, R.; Davis, P.; Yalkowsky, S. H. Chemosphere 1988, 17, 285—298.
110. Millard, J. W.; Alvarez-Nunez, F. A.; Yalkowsky, S. H. submitted. J. Pharm. Sci. 2001.
111. Chein, Y. W.; Lambert, H. J. Chem. Pharm. Bull. 1975, 23, 1085—190.
112. Pramar, Y. V.; Das, GuptaV. Pharmazie 1994, 49, 661—665.
113. Gupta, B.; Mishra, D. S.; Cheng, C-H.; Yalkowsky, S. H. Tox. Environ. Chem. 1991, 33, 7—21.
114. Riley, C. M. Solubilization of Some Poorly Soluble Drugs by Cosolvents; M. S. Thesis University of Arizona: Tucson, AZ, 1990.
115. Rubino, J. T. Cosolvents and Cosolvency. The Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Marcel Dekker, Inc. 1990; 3, 375—398.
116. Azaz, E.; Donbrow, M. J. Colloid and Interface Sci. 1976, 57, 11—15.
117. Fashelelbom, K. M. S.; Timoney, R. S.; Corrigan, O. I. Pharm. Res. 1993, 10, 631—634.
118. Collet, J. H.; Koo., L. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 1253—1255.
119. Collet, J. H.; Tobin, E. A. J. Pharm. Pharmacol. 1979, 31, 174—177.
120. Tomida, H.; Yotsuyanagi, T.; Ikeda, K. Chem. Pharm. Bull. 1978, 26, 2824—2831.
121. Tomida, H.; Yotsuyanagi, T.; Ikeda, K. Chem. Pharm. Bull. 1978, 26, 2832—2837.
122. Ismail, A. A.; Gouda, M. W.; Motawi, M. M. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 220—224.
123. Ikeda, J.; Kato, K.; Tukamoto, T. Chem. Pharm. Bull. 1971, 19, 2510—2517.
124. Gouda, M. W.; Ismail, A. A.; Motawi, M. M. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1402—1405.
125. Jafvert, C. T.; Van Hoof, P. L.; Heath, J. K. Water Res. 1994, 28, 1009—1017.
126. Alvarez-Nunez, F. A.; Yalkowsky, S. H. Int. J. Pharm. 2000, 200, 217—222.
127. Nakagawa, T.; Tori, K. Koll. Z. 1960, 168, 132—139.
128. Elworthy, P. H.; Florence, A. T.; Macfarlane, C. B. Solubilization by Surface-Active Agents; Chapman Hall: New York, 1968.
129. Attwood, D.; Florence, A. T. Surfactant Systems; Chapman Hall: New York, 1983.
130. Rosen, M. Surfactants and Interfacial Phenomena; Second Ed. John Wiley & Sons: New York, 1989.
131. Christian, S. D.; Scamehorn, J. F. Solubilization in Surfactant Aggregates; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994.
132. Higuchi, T.; Kristiansen, H. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1601—1608.
133. Kakemi, K.; Sezaki, T.; Mitsunaga, T.; Nakano, M. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1579—1601.
134. Kenley, R. A.; Jackson, S. E.; Winterle, J. S.; Shunko, Y.; Visor, G. C. J. Pharm. Sci. 1986, 75, 648—653.
135. Fawzi, M. B.; Davison, E.; Tute, M. S. J. Pharm. Sci. 1980, 69, 104—106.
136. Boje, K. M.; Sak, M.; Fung, H-L. Pharm. Res. 1988, 5, 655—659.
137. Connors, K. A. *Binding Constants*; Wiley-Interscience Publication: New York, 1987; 1—101.
138. Yoshida, A.; Arima, H.; Uekama, K.; Pitha, J. Int. J. Pharm. 1988, 46, 217—222.
139. Muller, B. W.; Brauns, U. Int. J. Pharm. 1985, 26, 77—85.
140. Okada, Y.; Kubota, Y.; Koizumi, K.; Hizukuri, S.; Ohfuji, T.; Ogata, K. Chem. Pharm. Bull. 1988, 36, 2176—2185.
141. Seo, H.; Tsuruoka, M.; Hashimoto, T.; Fujinaga, T.; Otagiri, M.; Uekama, K. Chem. Pharm. Bull. 1983, 31, 286—291.
142. Jozwiakowski, M. J.; Connors, K. A. Carbohyd. Res. 1985, 143, 51—59.
143. Muller, B. W.; Brauns, U. Int. J. Pharm. 1985, 26, 77—88.
144. Duchene, D.; Wouessidjewe, D. Pharm. Tech. 1990, 14, 26—34.
145. Szejtli, J. Pharm. Tech. 1991, 15, 36—44.
146. Szejtli, J. J. Inclus. Phenom. 1992, 14, 25—36.
147. Irie, T.; Uekama, K. J. Pharm. Sci. 1997, 86, 147—162.
148. Pitha, J.; Milecki, H.; Fales, H.; Pannell, L.; Uekama, K. Int. J. Pharm. 1986, 29, 73—82.
149. Data from CyDex, L. C., Overland Park, Kansas, 66212.
150. Tinwalla, A. Y.; Hoesterey, B. L.; Xiang, T.; Lim, K.; Anderson, B. D. Pharm. Res. 1993, 10, 1136—1143.
151. Li, P.; Tabibi, S. E.; Yalkowsky, S. H. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 1535—1537.
152. Li, P.; Zhao, L.; Yalkowsky, S. H. J. Pharm. Sci. 1998, 88, 1107—1111.

（贺 宁 译）

Y

药物制剂用赋形剂

Patrick J. Crowley
Luigi G. Martini
Glaxo Smithkline, Harlow, United Kingdom

引言

药物制剂不论其组成还是使用方法，必须要符合如下安全、有效和质量的要求：

（1）含量精确；
（2）取用方便；
（3）以适宜的剂型供药物吸收或将药物输送到靶位；
（4）在整个货架期和使用期中质量不变；
（5）制造过程稳妥，可重现，经济。

活性药物成分能单独用来制剂并符合上述要求的很少，常需添加其他物料以弥补不足。实际上，每种药品均由药物加赋形剂组成。赋形剂是药品所不可缺少的、在大多情况下是制剂中用量最多的部分。毋庸置疑，赋形剂的组成、作用和性质是成功地设计、开发、制造药物制剂的先决条件。

加到剂型中的赋形剂直接影响产品的性质，上述要求应首先考虑，其他诸如法规的可接受性、环境影响、成本等同样也是重要的选择标准。本章不可能评价用繁多复杂的赋形剂制成药物制剂的可行性与限制。因为每个题目的内容都可写成一章甚至一卷。只就赋形剂的评价和选择做一概述。关于各自的应用、性质和相关问题的更详细内容可见参考文献。

剂量的正确性

如果药物作用非常强（即剂量很低），必须将其分散到稀释剂或填充剂中，不然填充到胶囊或压片模孔中的量太少，以至于正常的填充及其他的操作误差会很大，超过制剂中药物的含量差异规定。同样低剂量的干粉吸入剂也要求将药物分散于或结合到惰性的助流剂载体。赋形剂必须与药物均匀地混合，以保证剂量的精确性[1]。

水是液态稀释剂，可用体积来表示所需的剂量，可精确地配方和给药，也常用于局部或透皮给药。水可成为与其他分子相互反应的介质，能促进水解或微生物生长，在制剂中是最成问题的材料。这说明一个材料解决了一个问题却引起了另一个问题，这就需要另外的赋形剂来克服。

液体或半固体制剂需要借助赋形剂来帮助活性成分的溶剂化或分散，药物的混悬剂需要增稠剂或其他添加物以保证药物的均匀分散和剂量的精确性。

使用者或患者的方便

若将苦味或不可口的药物作为口服液体会不受欢迎，尤其对年轻患者，一定要将药品制得可口些，以免影响依从性或药物的效果。在液体口服制剂、咀嚼剂、泡腾片及作为液体剂使用的分散片中，都含有甜味剂、香料或掩味剂[2]。某些注射剂会因体积多、不等渗、pH 等原因引起局部疼痛，要加入局麻剂苯甲醇来减轻不适。

剂型中药物的释放

当药物口服、应用于靶部位或采取其他给药方式后，制剂中的药物必须释出而被机体吸收或被输送到靶部位：

（1）口服后药物在胃肠道（GI）中溶出；
（2）局部或透皮制剂的药物要分配到皮肤中；
（3）药物进入肺部或鼻腔（吸入制剂）。

赋形剂能使药物输送迅速而一致。对于需要将药物输送到组织、器官甚至细胞时，赋形剂更为重要、更具技术诀窍。研究者开发了诸如“导弹装置”（homing devices）引送药物到所希望的靶器官去，这些方法在本章的后面讨论。

最简单的剂型中，将“释药”设计到剂型中，如在片剂、胶囊中加入崩解剂，使在消化道中崩解，药物因溶解释放被吸收。对难溶性药物可加入湿润剂来帮助溶解。更复杂的释放模式可使用赋形剂以改变剂型的释药，使延缓发生作用或改善药物的药动学而发挥最大的药效和减少副作用。

赋形剂也能影响药物从局部或透皮制剂中的释放，药物从制剂迁移到敷用表面的能力，与基质亲脂性、药物在剂型中溶解度以及添加物对皮肤或黏膜屏障等影响因素有关。

口服吸收促进剂

赋形剂通过促进药物从制剂中释放或分散和溶解，而帮助其口服吸收至全身循环。

直接促进药物吸收的赋形剂并不被广泛使用，但类脂质常用来促进疏水性药物的吸收。药物溶解或分散在类脂质中提供了供脂解的底物，形成药物和类脂乳状物而增加了溶出和吸收的表面积[3]。

类脂质如油酸或其盐可减缓胃的排空，犹如“回肠刹

车”，可使药物在小肠有较长的溶出和吸收时间[4,5]。枸橼酸和其他有机酸也可减缓胃排空[6]，但对大多数制剂还不够实用。

小肠血管进入肝门静脉使肝成为药物口服吸收的首个“停靠港”。肝的药物高代谢使其生物利用度降低，提高药物淋巴吸收的处方可避免肝的首过代谢，也可使抗癌药物靶向进入淋巴[7]。表 1 列出了用于淋巴输送的各种材料及相关治疗药物。

表 1 淋巴靶向的药物载体[7]

淋巴靶向载体	药物	作用类型
葡聚糖硫酸酯	博莱霉素	离子对
葡聚糖	丝裂霉素 C	共价结合
β-环糊精低聚物	1-己氨甲酰基-5-氟尿嘧啶	疏水性包合
L-乳酸低聚物微球	阿柔比星，顺铂	混和
明胶微球	丝裂霉素 C	混和
嵌入蛋白复合物	维生素 B_{12}	复合
苯乙烯-马来酸酸酐聚合物	Neocartinostation	共价结合
脂质体	阿糖胞苷	微囊
水/油乳剂	5-氟尿嘧啶，博莱霉素	微囊
类脂混合胶束	干扰素，肿瘤坏死因子	疏水结合
乳糜微粒，低密度脂蛋白	环孢素，维生素 A，辅酶 Q，DDT 乙炔雌二醇 3-环戊烯醚	混合
炭胶体	丝裂霉素 C，阿柔比星	疏水吸附

油酸可提高普萘洛尔的生物利用度（图 1），原因是药物被淋巴系统摄取，从而避免剧烈的肝首过效应[8]。三酸甘油酯也能增加抗疟药物卤泛群的淋巴吸收[9]。但较低的淋巴/血液的流动速率限制了淋巴对具有高亲脂性（logP>5）并且在长链三酸甘油酯中很易溶解的（>50mg/mL）药物的吸收。

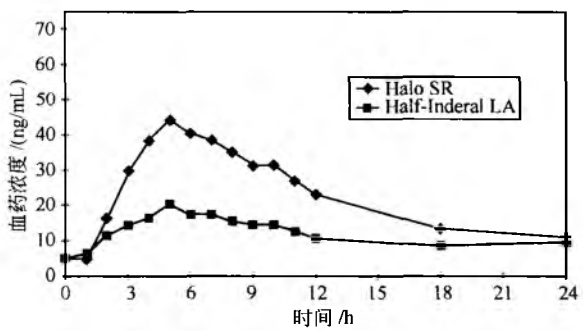


图 1 油酸对普萘洛尔生物利用度的影响[8]

小肠上皮的物理和酶屏障会阻碍药物口服后进入循环系统，故拉开细胞间坚固的结合点，以增加经膜的流量[10,11]。有人对如何抑制会逐出不识别或不想接受物质的 P-糖蛋白（PGP）[12]进行了研究，曾有报道说某些类脂是 PGP 的抑制剂，但尚未成功地应用于商品或试临床。

另一种促进小肠吸收的方法是抑制小肠细胞色素 P450 3A4，该酶与许多药物的前肝间质代谢有关。据报道葡萄汁是该酶的强力抑制剂，能增加环孢素、三唑仑、硝苯地平等药物的吸收。有人研究了葡萄汁中产生此效果的成分[13,14]，认为黄酮类作为制剂中赋形剂，也许比来自食物和饮料（如葡萄汁）中的酶抑制剂可导致更完全、更持久的效果。人们对于该领域的兴趣不断增加，是否会产生新的调节药物吸收的赋形剂将待诸时日。

一种生物黏附或吸水膨胀的赋形剂可通过增大与上皮细胞的接触面积、延长在胃中滞留时间或延缓肠转运而促进吸收。有人已经对纤维素醚、天然胶及合成丙烯酸聚合物等材料进行了评价，有许多材料可供使用。其不同的黏弹性和流变性，使得通过合理的混合，开发出黏性、密度、水化性、药物释放速率适合于研究中的药物和靶部位的生理特性的给药系统成为可能[15]。。

其他模式的吸收增加剂：用赋形剂可避开许多生理的、酶的屏障，而成功地将活性药物用非侵入的、非口服途径的方法进行输送。

透皮给药就是一个例子。皮肤，特别是其角质层对药物的扩散是一道屏障。简单的溶剂乙醇、丙二醇乃至芳香萜类化合物可增强对其渗透性，这是由于打破了阻碍穿透的角度层中的类脂层之故[16]。已知的透皮促进剂氮酮（Azone，lauzocapram）系在 20 世纪 70 年代后期开发的，用于透皮给药，但作为商品使用很有限[17]。

鼻腔或口腔黏膜有可能成为多肽或其他不稳定的包括低剂量、强效以及无严格的剂量效应的药物的给药部位。延长与其接触时间和减小清除速率（如鼻腔给药），为黏膜扩散创造促进药物吸收的条件。促进鼻腔吸收的赋形剂包括用磷脂增强黏膜的穿透性及吸水而产生生物黏附性质的物质（如油酸单甘油酯）。此外，凝胶剂如羟丙纤维素和聚丙烯酸能增强胰岛素在犬体的吸收[18]。但因胰岛素狭窄的治疗窗，尚无胰岛素的透鼻吸收商品。大分子的降钙素有较安全的剂量效应关系，已有鼻腔给药的商品。

靶向药物用赋形剂

在 20 世纪 90 年代发现和明确了一些天然介质在病理

Y

生理过程中的作用，同时生物技术已能相对廉价地大量制备这些物质作为治疗剂用。但是，从有效性、安全性以及方便患者等来看，有效地输送这些物质仍然有大量工作要做。大多数天然介质高效，但很不稳定，并需要输送到特定的器官或靶细胞。消化道的不利环境和酶的屏障使传统口服制剂并不都可行，但一些慢性病患者又难以接受注射给药。因此，许多生物技术的产品需要与一些材料合用，以保护其免受降解失活、降低排除速率或能作用于特定部位而增强活性或减少毒性。对该领域的关注和研究支持了这一观点，即要实现生物技术的理想必须有更有效的给药系统，对能增强吸收的赋形剂的研究不会衰退。

生物药学治疗剂的载体有已知的天然赋形剂和专门合成的能增强保护或靶向作用的材料，但还是以天然的或半合成的材料为主。如来自海洋生物（甲壳素和海藻酸盐）植物或动物的磷脂（蛋和豆磷脂）以及哺乳动物的胶原（明胶），都被用作输送或靶向的辅料或复杂制剂（如微乳或脂质体）中的组分。生物材料的广泛使用意味着自然界生产出的生物聚合物，较合成的化学物更为适合。也似乎更说明因为新的合成物在使用于人体前需要长期的、昂贵的安全性评价，除了体外试验或动物模型，更难及时加以评价。

更神秘的如糖蛋白、重组蛋白或单克隆抗体都有靶特异性[19]，但这些载体系统的临床效果却令人失望。这些材料和概念尚需要精细考虑以符所望。

减毒的腺病毒用作载体以输送到细胞核（基因药物），这是一个讨论未决的问题，即这些或那些靶向的载体材料是前体药物的赋形剂部分还是二者之中的什么。在这种情况下，活性和惰性材料之间的界线非常不清。传统的评价方法是单独评价，新药本身的动物安全性，然后将其与“惰性”辅料制成复杂的给药系统，这种评价方法是不合适的。因辅料对药物的处置和动力学有重要影响。

赋形剂作为稳定剂

产品的质量在制造、运输、储藏和使用时会变化，变质的原因是多方面和具体产品特有的，包括生物破坏或活性物化学转变或物理变化以致改变在体内的功能。变质会损害安全性，使药物失效而不能使用。赋形剂会影响或造成这些变化，除非在研究处方时对可能的相互作用细致地进行筛选。

赋形剂具有相反作用或可稳定易变药物的情况不常见。然而它们能降低药物的降解如光不稳定、氧化或分子间、分子内反应降解速率[20]，稳定化策略如下：

（1）处方中用一种光吸收谱可覆盖光敏药物的赋形剂，即所谓光谱覆盖技术；

（2）处方中用抗氧剂以免氧化降解，该技术用于含维生素的产品；

（3）用赋形剂阻止同分子内、邻近分子间或在能引起反应而降解的辅料中的基团结合。有一些如环糊精作为“立体稳定剂”的报告。聚乙二醇也因可阻止形成不活性重排物而稳定油膏制剂。不怎么特别但也同等重要的稳定剂包括液体制剂的防腐剂，用来防止微生物生长；缓冲剂可提供一个合适的环境，避免与 pH 有关的降解以达到良好的稳定性；螯合剂可避免重金属的催化降解。

赋形剂作为工艺助剂

大多数药品是由高速、自动控制的机器制造的，这样可以更安全、质量更好，成本也低。用于产品制作的赋形剂如下：

（1）全球广泛使用的润滑剂，在片剂和胶囊生产中用硬脂酸盐减少在压片或压实时移动部件之间的摩擦力。

（2）在片剂和胶囊制造时帮助粉末流动的赋形剂，如硅胶可改善从料斗到模圈的流动和帮助药粉进入模圈或胶壳中，改善填充的精度、均匀度和相应的剂量。

（3）压制用助剂有助于形成良好的压实体，不论是压片前干法制粒（重压法，slugging）或压片时。大多数赋形剂来自植物、动物或矿物（微晶纤维素、乳糖或碳酸镁）。

（4）人或牛的血清白蛋白常用于生产生物技术产品，避免蛋白质被软管、滤器和其他设备所吸附。

（5）保护药物在操作中免受损害的稳定剂，如冻干注射用生物技术产品，为避免在冷冻时失活常用的“冷冻保护剂”，如蔗糖、多元醇或葡聚糖。类似的技术用于避免脂质体的聚集和药物泄漏[21]。

“助流剂”也用于有整套给药装置的制剂，如肺部给药产品常制成干粉，通过口腔吸入，本应有效地输送到支气管的药物细颗粒，流动性不好。用助流剂如乳糖、甘露醇（有适当的粒径）能增强其流动性或起到载体的作用，呼吸时药物从剂型中（通常为胶囊）通过装置由口腔吸入。该制剂广泛地用于止喘剂，如沙丁胺醇和布地奈德[22,23]。治疗用重组蛋白人脱氧核糖核酸酶（用于处理胆囊纤维化）和人粒细胞刺激因子（G-CSF）也用“载体”来帮助其肺部给药[24]，因非常细小粒子会黏附于大粒子，可利用不同粒径和形状的颗粒来解决隔离的问题。如果细粒由于某种表面作用能结合成大粒，“特定的混合”可保证在随后操作时的均匀性[25]。

制作助剂通常不反映在制剂质量或其体内功效上。事实上，润滑剂因其疏水性会妨碍固体剂型的崩解和药物的溶出，因此其加入量和方式要仔细鉴定控制。为此，除了药物-赋形剂相互作用，赋形剂之间竞争以及禁忌性的可能性必须加以考虑和研究。

药物-赋形剂的相互作用

虽然有许多赋形剂曾作为稳定剂来使用，但还是有不少例子说明它反而会影响药物质量。赋形剂与药物各自的功能团会相互作用引起药物降解。许多含有伯、仲、叔胺基的小分子药物能与糖的醛基或残留在辅料中的挥发性醛

作用。化学作用能使药物降解，形成不活性的组分。如果降解严重，药物则失效。有时降解虽不怎么大，但形成的降解产物也会影响药物的安全性。

药物和赋形剂之间的物理作用也影响质量，如药物吸附于微晶纤维素使溶出减少[26]，氯霉素硬脂酸酯和硅胶在研磨时发生多晶体转变[27]。

赋形剂甚至不直接与活性药物作用而使药物降解。可溶性材料会改变 pH 或离子强度而加速在液体中的水解反应，这些作用在制备中加剧。如高压灭菌虽时间短暂，但因高温引起显著分解。葡聚糖广泛用作营养输液或在其他注射剂中作为渗透压调节剂，在含电解质的溶质中、在高压灭菌时会引起果糖的异构化，产生 5-羟甲基糠醛[28]。另外，冻干剂的冷冻阶段，丁二酸缓冲剂会析晶导致 pH 下降，使 γ-干扰素折叠[29]。这些在制剂开发和设计制备条件时，对“工艺的影响”的确认和定性是非常重要的。

微晶纤维素是部分解聚的纤维素，是部分结晶、部分非结晶的。能吸湿，所吸附的水是非结合水，在制备或储藏时能很快地与周围环境平衡[30]（图 2）。因此，它的水分能被制剂中吸湿性更强的药物所吸收。如果该药物对湿敏感，则会分解。在使用前干燥，可使其稳定，但水分的减少会使其作为压缩助剂的作用减弱[31]。

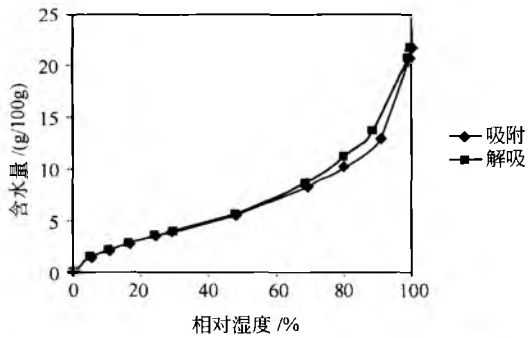


图 2　微晶纤维素在 25℃ 时的吸附等温曲线[30]

微晶纤维素中可能含有少量的非糖类的有机残留物，它们可能是来自初始原料木片中的木脂素，是一种交联的生物聚合物，主要为三种烯丙醇/酚（图 3）[32]。这些降解的酚或游离基残留化合物可能与药物产生化学反应。

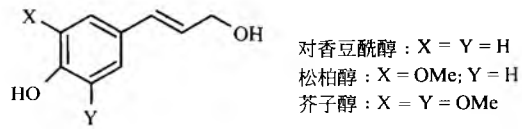


图 3　微晶纤维素中的可能残留物

关于微晶纤维素残留物的研究并不贬低它作为一个非常有价值的处方助剂用于帮助压片、崩解、助流以及作为固体剂型的常用稀释剂[33]。它也是在液体制剂中有用的添加剂。事实上关于微晶纤维素相互作用的知识也反映了对该材料感兴趣的程度。这么说的目的是为了从多方面说明赋形剂及其所含残留物能与药物相互作用，对于制剂研究者，首先是充分地“了解你的药物”，而了解赋形剂的组成、残留物及其他特性也很重要。

赋形剂的稳定性

赋形剂会随时间而变质。油、烷烃和调味剂的氧化，纤维素胶类的黏度降低，薄膜包衣用或释药调节用的高分子材料由于玻璃转变温度的变化而老化，这些均可导致弹性、穿透性以及水化速率的变化伴随释放性质和外观的变化[34]。

防腐剂如苯甲酸或对羟基苯甲酸酯是挥发性的，在产品制造中可能遇热而逸出。储藏时，如果有机气体能穿透容器，也可能丢失。乙酸盐缓冲剂在低 pH 时可挥发，在冻干的干燥阶段会失去。这些都需要加强了解赋形剂以及主药的性质，以采取合适的操作、储藏条件，必要时规定“使用期限”。

赋形剂中的杂质

与药物一样，赋形剂在制造中会有杂质残留、降解产物或其他异构物形成。过去常有将掺假物加入到商品中的事。幸有更好的分析技术、认证程序及质控监督的结合，这完全已属往事了。然而经常的检查还是必不可少的。如 1996 年在海地发生的小孩肾损害是由于在对乙酰氨基酚液体制剂中用了有二甘醇污染的甘油之故[35]。赋形剂的残留物会与药物或其他关键成分作用而影响质量及功效。甘露醇中的还原糖杂质会影响环庚肽的氧化降解[36]。

乳糖是制造片剂最广泛使用的一种赋形剂，具有不同的水合度和多种结晶。分离和纯化会用到二氧化硫[37]，但是尚无对此强氧化剂残留发生纠纷的报道。

乳糖是葡萄糖和半乳糖组成的二糖，有报道称在喷雾干燥的乳糖中有发现这些还原糖[38]和已糖降解 5-羟基糠醛[39]，该醛能与胺基起反应，生成席夫碱而呈色（图 4）[40]。

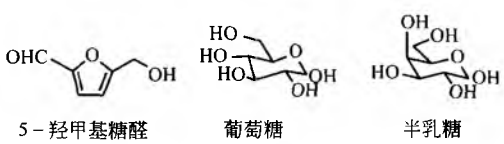


图 4　乳糖中可能存在的杂质

含有仲胺基的药物也能降解，有报道说在含有乳糖的抗抑郁药氟西汀的胶囊中有 Maillard 反应产物[41]（译者注：蛋白质、多肽或氨基酸的胺基与糖类的配糖羟基发生反应，最终生成棕褐色素物）。这些反应在食品工业的报道中更多。高温、低湿的食品制造引起了脂肪酸的氧化和糖的焦糖化，导致生成醛、内酯、酮、醇及酯[42,43]。显然，同样材料用在制剂中也会产生这些降解产物毫不为奇。可

Y

是大多数药学专著中并未列出这些有机污染物。有些公司不愿让使用者了解赋形剂残留物和污染物的资料，制药工业对商品提供者也仅是小部分业务，因此要求各自的标准和控制是很困难的。表 2 列出的仅供参考，并不全面。

表 2 在常用赋形剂中可能的残留物

赋形剂	残留物
PVP、吐温、苯甲醇	过氧化物
硬脂酸镁、固定油、石油烃	抗氧剂
苯甲醇	苯甲醛
聚乙二醇	醛、过氧化物有机酸
微晶纤维素	半纤维素、木脂素

赋形剂残留物会影响安全性和耐受性。来自羊毛的羊毛脂可能含有少量处理羊群寄生虫的杀虫剂，虽然其剂量很小，不足以引起毒性，但当羊毛脂用于化妆品和皮肤局部用药剂时可能会引起过敏反应。

矛盾的是，赋形剂残留物如抗氧剂可能不经意地用作药物稳定剂，供货者未通报除去或由其他稳定剂代替，可能稳定性无法预期，其结果是将产品从市场召回。药品制造者与辅料供应者之间应协议交换监控系统已成为非常必要的事。

赋形剂的安全性

传统上认为赋形剂是惰性的，现在已了解某些载体有潜在的不利作用，其程度从不方便到严重的、可能是普遍性的也可能是个体患者特有的，与剂量不一定有关。这些反应可能是由于赋形剂本身或是原始材料带来的，或是制造过程中产生的残留物。乳糖最广泛地用于制造片剂，在英国有 5%～10%的人口有乳糖吸收障碍[44]，没有理由认为在其他国家可能低于该比例。乳糖酶缺乏症会使乳糖被肠道细菌发酵产生乳酸和 CO_2 引起胃痉挛、腹泻和呕吐[45]，这种临床症状是否因口服制剂中正常的含量而出现尚未知，但这种现象可解释在监控志愿者的临床Ⅰ期的报告中常出现的次要副反应。

谷类谷蛋白的吸收障碍是另一个来自赋形剂的不利反应。为此，要求无谷蛋白食物，目前大多数用于药品的淀粉是不含谷蛋白的。但含谷蛋白的材料还用作微囊产品的成膜材料[46]，谷蛋白还是有可能存在于采用谷类为起始或基础材料的赋形剂中（如干粉香料有时用麦芽糖糊精）。

蔗糖为很好的甜味剂，特别用在小儿液体制剂，但它会引起龋齿及糖尿病治疗中的混乱，尽管蔗糖继续广泛应用于食品和糖果，现已逐步从药品中排除。山梨醇是另一种优秀的甜味剂，用在液体制剂中取代蔗糖，但高剂量使用时会引起腹泻和气胀，这也可能是附加的影响（即活性成分如抗菌素组成处方时，其本身就会引起胃肠的不适）。

合成甜味剂作为赋形剂受到了挫折[47]，环己（烷）氨（基）磺酸盐（糖精）由于有致癌性的报道而被美国禁止，并于 1969 年被撤销“一般认为是安全的”（GRAS）状态。进一步的研究澄清了安全性并企图复用，但仍未批准。目前，只在欧洲被接受。

糖精还是有争议，仍怀疑其是致癌源。主要是在消化时被肠菌丛形成环己胺[48]，1997 年 FDA 禁止其作为食品添加剂，但在国会会议上被延期执行。在加拿大，除了可添加在供糖尿患者的饮料和食物中，是不容许其他使用的。

调味剂谷氨酸钠有时用作蛋白质补充剂或肝提取物的调味剂，常在餐饮后（并非用药后）引起面红、头痛、胸痛，这就是所谓中国餐厅综合征[49]。

阿司帕坦是一个新的甜味剂/增味剂，但用量太多会引起血管性水肿和荨麻症，其水解生成苯丙氨酸，对苯丙酮尿症患者禁用。阿司帕坦在溶液中水解生成的二酮哌嗪衍生物能与亲核取代敏感的烯烃发生 Michael 反应。假如发生此反应，其生成物与药物及处方有关，则其安全性都将不得而知[45]。

苯甲醇用作局麻剂此前已有讨论，也可用作注射剂中的防腐剂。但有些证据证明，苯甲醇有神经毒性，在英国对 3 岁以下儿童是禁忌的[50]。

许多文献报道了防腐剂（对羟基苯甲酸酯、氯甲酚）、抗氧剂（酸丙酯、偏亚硫酸盐）、表面活性剂及溶剂的种种过敏反应，由于该表太长，本章难以讨论，参阅文献 [48] 中许多关于免疫毒性方面的各种剂型的赋形剂的讨论。

许多这方面的研究涉及大剂量用于动物皮肤和在Ⅰ期临床研究阶段用于人体志愿者。有的关注有过敏史的患者的反应。要权衡同一赋形剂在食品、糖果、化妆品、家用产品以及医药上的应用时发生副反应的可能性，并且用前瞻性的眼光来看副反应的报告。这并不是要轻视其过敏性和其他已报告的反应，除非全面叙明，否则有可能会导致加强赋形剂的使用限制和使用“完全惰性”的制剂辅料的不现实要求。

副反应也可由残留物引起，人的 HIV 感染以及牛的海绵状体脑病加重了对诸如人、牛血清球蛋白、乳糖、明胶、脂肪酸及其盐以及多羟基物（如甘油等）材料引起的病毒传染的恐惧阴影。对于血液提供者的筛选过程一般是可接受的，即通常用于人血清白蛋白的灭菌（原用以防止肝炎感染，至少 60℃，10h），足以杀死 HIV 病毒。但是海绵状体脑病的毒蛋白很耐热，各种形式的灭菌方法均较难将之除去。为此，植物来源的脂肪酸和有机醇类的赋形剂逐渐增多。明胶胶囊是否将被淀粉、纤维素胶取代（同样理由）还要留待今后。

新的赋形剂

人们期望随着对病理过程和药物受体动力学了解的增多，以及 20 世纪 90 年代严酷的要求优质的经济有效的生产标准的压力会有新的更好的药用助剂诞生。但事实上并没有兑现。某些事实暗示着公元 2000 年的赋形剂和公元前 2000 年所用的无多大区别[51]。可以断言，只有少数真正新赋形剂在过去的 20 年出现。

这不难理解，就如新药一样，一个新赋形剂在应用于人体之前，必须通过大量的安全性和代谢过程的评价。这些都是为在美国申报第 4 类 DMF 或在欧盟取得适用性证书所要求的[50]。如此安全性鉴定和申报程序化钱耗时，此外，也很难断言在任何材料中“没有活性”。赋形剂不需要处方或药物警戒的监察，在获得批准之前只需要申明是洁净的。新赋形剂可与新药同时评价，但很少机构愿意冒这样的风险投资将一个未被批准的赋形剂作为新药的辅料。新赋形剂仍然像一件稀少的商品，然而还是有许多材料可考虑作为“新”的药用助剂引起人们的兴趣。

1. 环葡萄糖聚合物

环糊精不是新分子实体，在 100 年前已有报道，但只是在近年被认识作为处方助剂。它能稳定易变药物，能用于难溶性药物的增溶。通过将不溶性分子插入到其分子的孔穴中，形成的复合物具有大大增强环糊精溶解度的特性[52]（图 5）。该复合物也可有效地掩盖口感和气味，降低高挥发性药物的升华[53]，增加药物的热稳定性[54]。

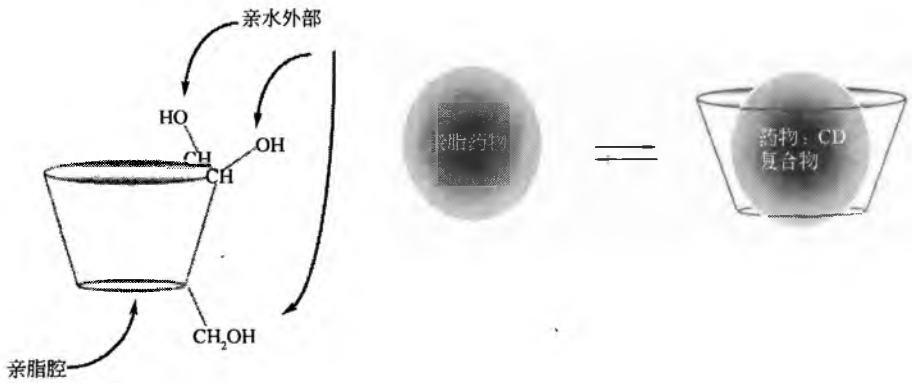
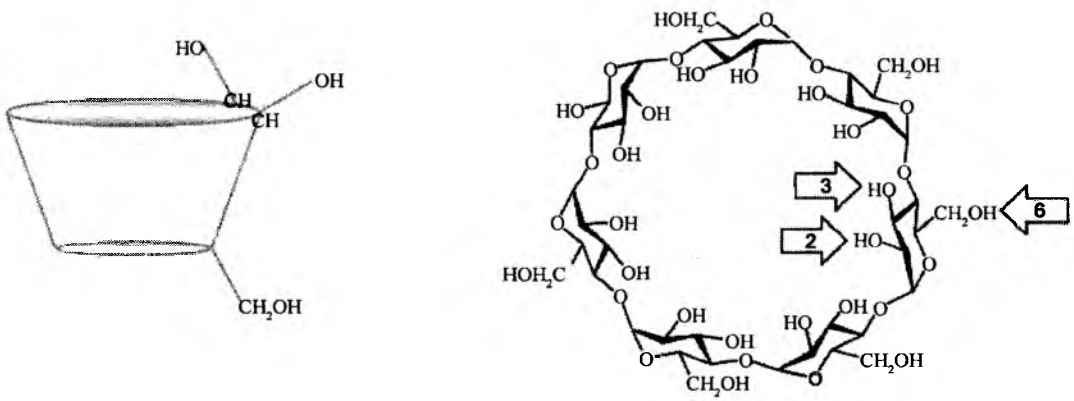


图 5 环糊精增溶的机制（CyDey 公司供图）

母体环糊精有 α、β 及其他形式的（图 6），并各有特性，不是一个可广泛地使用的处方辅料。其中等的溶解度及必须形成分子复合物意味着只能适用于低剂量、高效的化合物。而且，β-环糊精因其肾毒性而不能用于注射剂。这是由于其低溶解度倾向于与体内的甾固醇复合并在邻近的肾小管沉淀所致。因此，这种对难溶化合非常有用的增溶剂对注射是不能用的。β-环糊精近年来已是口服制剂的有用的赋形剂，在欧洲药典（EP）2000 以及 U. S NF19 都有专门的章节。



母体环糊精	a	b	g
葡萄糖单元	6	7	8
相对分子质量	973	1135	1297
水熔性/(g/100mL)	14.5	1.85	23.2
腔直径/Å	4.7~5.3	6.0~6.5	7.5~8.3
腔体积/(Å)^3	~174	~262	~472

图 6 一些环糊精的特性和官能团（CyDex 公司供图）

Y

值得鼓舞的是，现已有比它的母体溶解度大的环糊精衍生物，如β-环糊精的羟丙基醚和磺丁基醚（图 7），其实磺丁基醚是为了使很难溶解的新药制成注射剂而特别开发的，两种衍生物都已提交了安全性评价程序（磺丁醚用于注射）以及向 FDA 申报了 DMF。这些新赋形剂制造者的创举和承诺开拓了昂贵的安全性评价程序是非常值得称赞的。如此的环糊精将是“更适用的”，将是制剂专家的手头非常有用的工具。参考文献中引证了两篇优秀的关于环糊精的前景、性质和局限的综述[55,56]。环糊精是一类赋形剂，每一种都有其不同的性质，适合于以某种方式来弥补不同药物的不足和有助于改善其性能。

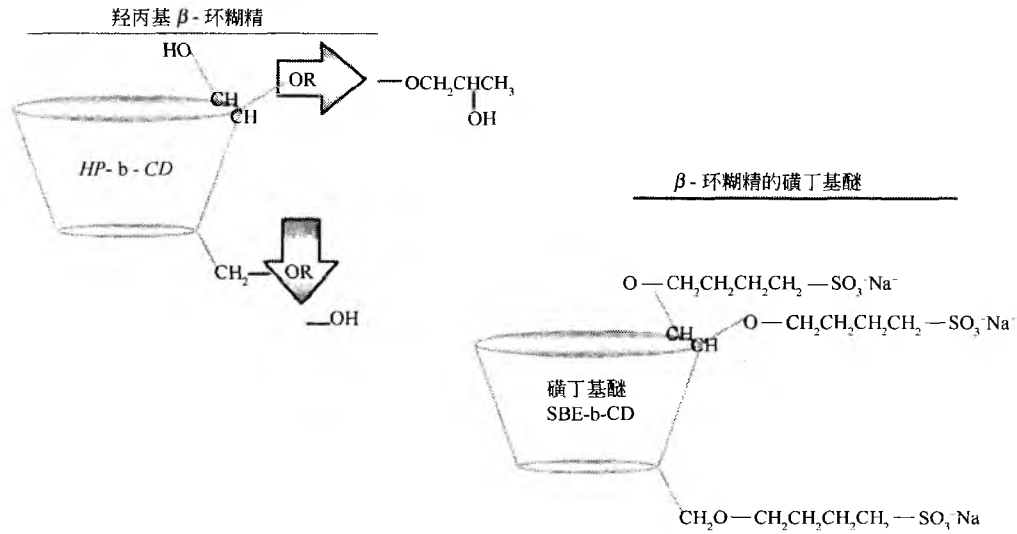


图 7　新环糊精衍生物的功能基团（CyDey 公司供图）

2. 氟烃

氯氟烃（CFC）推进剂用无臭氧层破坏性的含氢氟烷（HFC）代替，主要有两个理由：其一，它说明环境的影响是一个重要的选择标准，尤其当“绿色”成为公众的要求时。其二，HFC 是由制药企业财团开发，采用成本共负，采用评价程序由最终用户和推进剂制造厂事先同意的方式。这样的合作有利于将来开发给药和靶向的新赋形剂，其益处将是毫无疑问的。

3. 聚合物靶向或输药助剂

许多文献，尤其是科学研究院所的，都设计有合成、半合成的聚合物，用以增加靶向或给药性质。但是，评价这些材料都是在体外的或啮齿类动物身上进行的。未见有在人体使用的清除性报告。因此，这类物质尚不能考虑作为赋形剂使用。

如果在未来没有新的给药材料能用，药剂专家也只能使用已有赋形剂的混合物，综合其性质，达到“优于各自的总和”性能，如黏弹性、扩散性、组织/器官特异性或其他所希望的靶向或输药特性。这样似乎更能成为创造性技术，对于制剂专家这是鼓舞人心和能实现的。

赋形剂的选择

活性成分的性质决定了赋形剂的选择、剂型的设计及其制造过程。了解患者群体及临床的条件也不可少。药物使用的模式以及所用剂量也必须重视，随后评价候选的赋形剂，以证明其具有期望的功能（达到其目的），不与药物及其他赋形剂作用，不能有任何药理作用，影响安全性和耐受性。

同样还要考虑赋形剂的规章状况以及各个国家特定的要求或禁忌。美国和日本的管理当局公布了医药用赋形剂的清单[57,58]，这些材料被认为适合于各个已经在被使用的给药剂型，对一些没有使用历史的材料，必须提供证据证明它们不影响患者的安全性、不产生不应有的反应。

赋形剂的提供源头

赋形剂决定药品的功效和性质，必须来自可靠的供货者，有质控部门以保证稳定的生产和管理。不要向掮客取货，要严格审查供货者的质量控制系统，特别采用新的药厂供货者时，要设立验证程序，以建立对供货源的可信度[59]，这些程序如下：

（1）赋形剂和所配用药品的性质。

（2）所用赋形剂的制造和质控条件。

(3) 供货者的资质及其对药厂所要求 GMP 的理解。

(4) 制造厂的质量保证系统 (QA)。赋形剂和活性成分不一样，当前尚不需要 GMP 管理，除非是新材料 (此时批准前的 GMP 检查是必需的)。然而，欧洲和美国的国际药用辅料协会 (IPEC) 对药用赋形剂的 GMP 指导并没有生效。然而有许多关于 QA 的有用的信息，是一个对赋形剂工厂执行审查的很好的参考[60,61]。

特别的药物或制剂需要赋形剂来改善其稳定性、输送能力或其他性能，那么该赋形剂必须要有适合该产品的性质 (如密度、无特别残留物等)。在这种情况下，它必须增加超过药典或由供货者提供的标准以符合新的质量试验和限制。

同样也要谨慎了解用于制造赋形剂的溶剂、试剂和材料，考虑其可能的残留物与药物的反应。并建议与供货者商定变更质控操作通知单，以避免赋形剂制造中导入的新物质可能对药品有影响。

结论

传统的认为赋形剂是惰性材料的概念已经过时了，现在已经接受了赋形剂不单单是填充物，也能是许多活性主药的真“伙伴”，并且具有增效或相反的影响。因此，其选择、质控、加入模式、稳定性及作用性质，应像药物一样引起注意。有关赋形剂的知识，如其缺点、处理须知，操作及储藏的要求都是药学技术人员的极有用资料。

参 考 文 献

1. Orr, N. Quality Control and Pharmaceutics of Uniformity of Content of Medicines Containing Potent Drugs with Special Reference to Tablets. Progress in the Quality Control of Medicines; Deasy, P. B., Timoney, R. F., Eds.; Elsevier Press: Amsterdam, 1981; 193—256.
2. Roy, G. M. Taste Masking in Oral Pharmaceuticals. Pharm. Technol. (USA) 1994, 18, 84—90.
3. Hutchinson, K. Formulation of Softgels for Improved Oral Delivery of Hydrophobic Drugs. Excipients and Delivery Systems for Pharmaceutical Formulations; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1995; 133—147.
4. Bates, T. R.; Sequira, J. A. Bioavailability of Micronized Griseofulvin from Corn Oil: In Water Emulsion, Aqueous Suspension and Commercial Tablet Dosage Forms. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 793—797.
5. Brown, N. J.; Read, N. W.; Richardson, R. D.; Bogentoft, C. Characteristics of Lipid Substances Activating the Ileal Brake in the Rat. Gut 1990, 31, 1126—1129.
6. Hunt, J. N.; Knox, M. T. The Slowing of Gastric Emptying by Four Strong Acids and Three Weak Acids. J. Physiol. 1972, 222, 187—208.
7. Muranishi, S. Drug Targeting towards Lymphatics. Adv. Drug Res. 1991, 21, 1—37.
8. Barnwell, S. G.; Gauci, L.; Harris, R.; Attwood, D.; Littlewood, G.; Guard, P.; Pickup, M. E.; Barrington, P. J. Controlled Release 1994, 28 (1—3), 306—309.
9. Porter, C. H.; Charman, S. A.; Charman, W. N. Lymphatic Transport of Halofantrine in the Triple-Cannulated Anaesthetized Rat Model: Effect of Lipid Vehicle Dispersion. J. Pharm. Sci. 1996, 85 (4), 351—361.
10. Muranishi, S. Absorption Enhancers. Crit. Rev. Drug Carrier. Syst. 1990, 7 (1), 1—33.
11. Swenson, E. S.; Curatola, W. J. Means to Enhance Penetration 2. Intestinal Permeability Enhancement for Protein Peptides and Other Polar Drugs: Mechanisms and Potential Toxicity. Adv. Drug. Del. Rev. 1992, 8 (1), 39—92.
12. Hidalgo, I. J. Cultured Epithelial Cell Models. Models for Assessing Drug Absorption and Metabolism; Plenum Press: New York and London, 1996; 35—48.
13. Hukkinen, S. K.; Varhe, A.; Oikkola, K. T.; Neuvonen, P. J. Plasma Concentrations of Triaxolam are Increased by Concomitant Ingestion of Grapefruit Juice. Clin. Pharmacol. Ther. 1995, 58 (2), 127—131.
14. Edwards, D. J.; Bellevue, F. H.; Woster, P. M. Identification of 6′, 7′ Dihydroxybergamotin, a Cytochrome P450 Inhibitor in Grapefruit Juice. Drug Metab. Dispos. 1996, 24 (12), 1287—1290.
15. Zaman, M.; McAllister, M.; Martini, L. G.; Lawrence, M. J. The Physicochemical and Biological Factors Influencing Bioadhesion. Pharm. Tech. Eur. 1999, 11 (8-Biopharm. Suppl.), 52—60.
16. Hadgraft, J.; Walters, K. A. Skin Penetration Enhancement. J. Dermatol. Treat. 1994, 5 (1), 43—47.
17. Wiechers, J. Excipients in Topical Drug Formulations. Man. Chem. 1998, 17—21.
18. Rogerson, A.; Parr, G. D. Nasal Drug Delivery. Routes of Drug Administration; Florence, A. T., Salole, E. G., Eds.; Wright: London, 1990; 1—29.
19. Hnatyszyn, H. J.; Kossovsky, N.; Gelman, A.; Sponsler, E. Drug Delivery Systems for the Future. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1994, 48 (5), 247—254.
20. Crowley, P. J. Excipients as Stabilizers. Pharm. Sci. Tech. Today 1999, 2 (6), 237—243.
21. Carpenter, J. F.; Crowe, J. H. Modes of Stabilization of a Protein by Organic Solutes during Dessication. Cryobiol. 1988, 25, 459—470.
22. Ganderton, D. The Generation of Respirable Clouds from Coarse Powder Aggregates. J. Biopharm. Sci. 1992, (3), 102—105.
23. Steckel, H.; Muller, B. W. In Vitro Evaluation of Carri-

Y

er Particle Size and Concentration on In Vitro Deposition. Int. J. Pharm. 1997, 154, 31—37.

24. Chan, H. K.; Clark, A. R.; Gonda, I.; Mumenthaler, M.; Hsu, C. Spray Dried Powders and Powder Blends of Recombinant Human Deoxyribonuclease (rhDNase) for Aerosol Delivery. Pharm. Res. 1997, 14 (4), 431—437.
25. Cook, P.; Hersey, J. A. Powder Mixing in the Tableting of Fenfluramine Hydrochloride: Evaluation of a Mixer. J. Pharm. Pharmacol. 1974, 26, 298—303.
26. Senderoff, R. I.; Mahjour, M.; Radebaugh, G. W. Characterization of Adsorption Behavior by Solid Dosage Form Excipients in Formulation Development. Int. J. Pharm. 1992, 83, 65—72.
27. Forni, F.; Coppi, G.; Iannuccelli, V.; Vandelli, M. A.; Cameroni, R. The Grinding of the Polymorphic Forms of Chloramphenicol Stearic Ester in the Presence of Colloidal Silica. Acta. Pharmaceutica. Suecica. 1988, 25 (3), 173—180.
28. Buxton, P. C.; Jahnke, R.; Keady, S. Degradation of Glucose in the Presence of Electrolytes during Heat Sterilization. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1994, 40 (3), 172—175.
29. Lam, X. M.; Constantino, H. R.; Overcashier, D. E.; Nguyen, T. H.; Hsu, C. C. Replacing Succinate with Glycollate Buffer Improves the Stability of Lyophilised Gamma Interferon. Int. J. Pharm. 1996, 142, 85—95.
30. Hollenbeck, G. R.; Peck, G. E.; Kildsig, D. O. Application of Immersional Calorimetry to Investigation of Solid-Liquid Interaction: Microcrystalline Cellulose-Water System. J. Pharm. Sci. 1978, 67 (11), 1599—1606.
31. Khan, K. A.; Musikabhumma, P.; Warr, J. P. The Effect of Moisture Content of Microcrystalline Cellulose on the Compression Properties of Some Formulations. Drug Dev. Ind. Pharm. 1981, 7, 525—538.
32. Lewis, N. G.; Davin, L. B.; Sarkanen, S. The Nature and Function of Lignins: Comprehensive Natural Products Chemistry; Pinto, B. M., Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1999; 3, Ch. 18.
33. Jivraj, M.; Martini, L. G.; Thomson, C. M. An Overview of the Different Excipients Useful for the Direct Compression of Tablets. Pharm. Sci. Technol. Today 2000, 3 (2), 58—62.
34. Guo, J. H. Aging Processes in Pharmaceutical Polymers. Pharm. Sci. Tech. Today 1999, 2 (12), 478—483.
35. Anonymous. Morbidity and Mortality Weekly Reports 1996, 45 (30).
36. Dubost, D. C.; Kaufman, J.; Zimmerman, J. A.; Bogusky, M. J.; Coddington, A. B.; Pitzenberger, S. M. Characterization of a Solid State Reaction Product from a Lyophilized Formulation of a Cyclic Heptapeptide: A Novel Example of an Excipient-Induced Oxidation. Pharm. Res. 1996, 12, 1811—1814.
37. Stabilization of Crystalline Lactose, Netherlands Patent Application: NL 8301220 A 841101 (DMV-Campina B. V., Netherlands). Patent Application, NL 83—1220 830407.
38. Brownley, C. A., Jr.; Lachman, L. Preliminary Report on the Comparative Stability of Certified Colorants with Lactose in Aqueous Solution. J. Pharm. Sci. Jan. 1963, 52, 86—93.
39. Brownley, C. A., Jr.; Lachman, L. Browning of Spray-Processed Lactose. J. Pharm. Sci. April, 1964, 53, 452—454.
40. Janicki, C. A.; Almond, H. R., Jr. Reaction of Haloperidol with 5-(Hydroxymethyl)-2-Furfuraldehyde: An Impurity in Anhydrous Lactose. J. Pharm. Sci. 1974, 63, 41—43.
41. Wirth, D. D.; Baertschi, S. W.; Johnson, R. A.; Maple, S. R.; Miller, M. S.; Hallenbeck, D. K.; Gregg, S. M. Maillard Reaction of Lactose and Fluoxetine Hydrochloride, A Secondary Amine. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 31—39.
42. Aidrian, J. The Maillard Reaction. Handbook of the Nutritive Value of Processed Food, Rechcigl, M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1982; 1, 529—608.
43. Danehy, J. P. Mailliard Reactions: Non-Enzymic Browning in Food Systems with Specific Reference to the Development of Flavor. Adv. Food Res. 1986, 30, 77—138.
44. Neale, G. The Diagnosis, Incidence and Significance of Disaccharidase Deficiency in Adults. Proc. Royal Soc. Med. 1968, 61, 1099—1102.
45. Weiner, M., Bernstein, I. L., Eds. Adverse Effects: Bulk Materials. Adverse Reactions to Drug Formulation Agents; Marcel Dekker. Inc.: New York, 1989; 89—113, Ch. 6.
46. Weiner, M., Bernstein, I. L., Eds. Adverse Effects: Bulk Materials. Adverse Reactions to Drug Formulation Agents; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 121—128, Ch. 7.
47. Pinco, R. G. Hurdling International Barriers to Existing and New Excipients. World Pharm. Stand. Rev. 1991, 2, 14—19.
48. Smith, J. M.; Dodd, T. R. P. Adverse Reactions to Pharmaceutical Excipients. Adv. Drug React. Pois.

Rev. 1982, 1, 93—142.

49. Taylor, S. L.; Dormedy, E. S. The Role of Flavoring Substances in Food Allergy and Intolerance. Adv. Food Nutrition Res. 1998, 42, 1—44.
50. Saiki, J. H.; Thompson, S.; Smith, F.; Atkinson, R. Paraplegia Following Intrathecal Chemotherapy. Cancer 1972, 29 (2), 370—374.
51. Robertson, M. I. Regulatory Issues with Excipients. Int. J. Pharm. 1999, 187, 273—276.
52. Staniforth, J. N. Design and Use of Tableting Excipients. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (17/18), 2273—2308.
53. Loftsson, T.; Brewster, M. Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Solubilisation and Stabilization. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 1017—1025.
54. Duchene, D.; Vaution, C.; Glomot, F. Cyclodextrins: Their Value in Pharmaceutical Technology. Drug Dev. Ind. Pharm. 1986, 12 (11/13), 2193—2215.
55. Cwiertnia, B.; Hladon, T.; Stobieki, M. Stability of Diclofenac Sodium in the Inclusion Complex with β-Cyclodextrin in the Solid State. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51 (11), 1213—1218.
56. Stella, V. J.; Thompson, D. O. Cyclodextrins-Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1997, 14 (1), 1—104.
57. Stella, V. J.; Rajewski, R. A. Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. Pharm. Res. 1997, 14 (5), 556—567.
58. Inactive Ingredients Guide Division of Drug Information Resources; United States Food & Drug Administration Center for Drug Evaluation Research (CDER): Rockville, MD, Jan 1996.
59. Japanese Pharmaceutical Excipients Directory 1996 Japanese Pharmaceutical Excipients Council, Eds.; Yakuji Nipo, Ltd.: Tokyo, MHW, Japan, 1996.
60. Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers and Distributors; Medicines Control Agency (UK), HMSO: London, 1997, Section 5, Annex 8.
61. Mervcill, A. A Good Manufacturing Practices Guide for Bulk Pharmaceutical Excipients. Pharm. Technol. (USA) 1995, 19, 34—40.
62. Weiner, M., Bernstein, I. L., Eds. Adverse Reactions to Drug Formulation Agents (A Handbook of Excipients); Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989.
63. Kibbe, A. J., Ed. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed.; Pharmaceutical Press: London, 2000.
64. Inactive Ingredients Guide Division of Drug Information Resources; United States Food & Drug Administration, Center for Drug Evaluation Research (CDER), Rockville, MD, Jan 1996.
65. Japanese Pharmaceutical Excipients Directory 1996, Japanese Pharmaceutical Excipients Council, Eds.; Yakuji Nipo Ltd.: Tokyo, 1996.

（侯惠民 译）

药物治疗方面的错误

Diane D. Cousins

United States Pharmacopeia, Rockville, Maryland, U. S. A.

引言

美国医学协会（Institute of Medicine）在1999年11月发表的一篇报道[1]引起了国内对医学错误（包括药物治疗错误）空前的极大关注。大批参与人员和解决方案增加了围绕此问题的争议和复杂性，这些解决方案必须要为美国民众的公众健康和安全说明这个问题。据报道，医疗产品及其生产商不仅是该问题的一部分，而且也是解决该问题的一部分。国家对药物治疗错误的报道及其预防所进行的努力使得制药工业比其他医疗产品生产更为重要。自1991年开始，由美国药典委员会（USP）牵头，联合制药行业界进行了诸多努力，分享来自医疗健康从业者中的报道以及对报道的问题行业界所采取的行动的评述。医学协会建立了一种错误分析的系统方法，这种方法主要是鉴别系统中错误的根本原因而不是对个体的指责。报道中假设某个犯错误的个体通常受过良好的培训，具有丰富的经验和良好的个人目的，而他们的错误是由于所操作的系统缺乏安全的结果。随着新技术及其医疗保健实施程序的出现，新问题可能随之浮出水面，尤其是医疗保健系统为了响应国家的指令而被重新规划。制药行业面临的挑战将是从自身的经验中吸取教训，了解USP国家数据库中的错误，制药行业被寄希望于知晓一些药物的处理过程以及其产品应用方面的知识，而且能够预期由产品之外的设计错误引起的误用。

问题的范围

1. 药物治疗错误的影响范围及相关的致病率和死亡率

经常发生在美国医院的药物治疗错误已经被很好地记录在档案中[2~4]。1962～1995年开展的对多种住院患者管理错误率的观察研究表明，管理错误率范围为0～59%[5]。据报道，估计住院患者中有近7%发生药物治疗错误[6]。一项研究发现，药物治疗错误率达到1.4%[4]。Lesar等对290 000例药物治疗处方进行了分析，估计每1000份手写的处方中有2个严重错误。通过回顾死亡证明，与1983年的3000人相比[3]，估计在1993年有近8000人死于药物治疗错误。研究者发现在两家儿童医院里发生错误的概率为每1000例中有4.7例[7]。最近，几篇关于药物治疗错误的优秀的全面综述文章已经发表[1,5]。

已经有对药物不同应用环节的种种错误的报道。研究者使用不同的方法和定义研究药物治疗错误以及研究药物应用过程的不同环节（如处方、调剂、管理）。由于对用于报道药物治疗错误率的命名没有国家统一标准，因此有以下几种命名：调剂剂量、给药剂量、处方剂量、患者服用天数。所以，文献中报道的错误率用于进行比较是很局限的[5]。

研究中采用一套系统的方法用于错误的预防和调查[8~11]。这就意味着，药物应用过程中的所有方面（包括产品自身特性），应该被研究以提高使用安全性。

2. 药物治疗错误的费用

药物治疗错误对患者（直接费用，如额外的治疗和住院时间的延长）和社会（间接费用，如工作量降低、引发诉讼费用）都是昂贵的[1,5]。基于历时六个月对两家医院的11个内外科的研究，一所拥有700个床位的教学医院药物治疗错误的费用大约2 800 000美元/年[2]。因药物治疗错误引起的住院天数的增加值估计为每病例4.6天[2]。在长达4年的对第三治疗中心的药物副作用（ADE）的研究中发现，这些事件的1%归为药物治疗错误。研究期间，医院因为ADE额外支出将近4 500 000美元，同时增加了近4000天住院天数[12]。

在与医疗操作相关的玩忽职守中，药物导致的损害是主要原因[8]。1985～1992年，对药物治疗错误进行的赔偿平均近100 000美元。大部分药物治疗错误的赔偿在法庭外和解[5]，无从考证上面提到的患者伤害的费用和医院的费用[1,3]。

USP使药物治疗错误标准化的努力

1. USP的历史及其进入药物治疗错误领域

USP是一个私有的、非盈利组织，它的使命是通过建立标准以及建立药品和相关技术使用的权威信息促进公众健康。USP建立标准的权力是由食品药品法案和联邦食品药品化妆品法案确定的。这些标准包括药物的性质、浓度、纯度、包装、标签及储存。USP也为药品起通用名字，它也是美国命名委员会（USAN）的成员，该委员会为美国药品设立非专利名称。通过其从业人员的报道网络（USP PRN），USP参与了健康专业人士的报告计划近30年。这些报道通过提供从业者对市售药物的特性及安全使用的自身经验来支持建立标准化的行动。

大约十年前，USP同意为药物治疗安全机构整理有关药物治疗错误的报告计划。这个机构正在寻求可以报道此计划的合作者并相信这个计划在全国范围内造成很大的影响。通过这个计划，USP想了解一些关于产品标签、包装及命名等引起或导致错误发生的情况。然后，USP准备制定一些标准来解释此类问题并阻止错误的再发生。1994年，USP签署了一份协议，从药物治疗安全机构购买计划，建立USP药品治疗错误报告计划（MER）。作为USP标准制定过程中重要部分，USP着手长期承担的这项工作。作为协议的一个条件，ISMP继续接收报告的拷贝，进行教育和宣传这项工作。

保健专家报告在他们所从事的领域或者作为当事人观察到的错误。报告信息由USP形成数据库，判断问题出现的情况，增强从业者对这些问题的了解，建立关于这些药品问题合适的解决方法。

2. USP药物治疗错误报告计划

预防药物治疗错误的发生是USP MER规划的主要目的。它收集和分析卫生保健从业人员提交的潜在和确实存在的药物治疗的错误。这个规划为卫生保健专家提供机会来报道药物治疗错误并从而通过他们的经验来提高患者用药的安全性。

为了报道药物治疗的错误，从业人员可以拨打USP免费电话1-800-23ERROR。语音邮件系统每天24小时、每周7天开通。报告者可以匿名或者直接向USP卫生保健专业人员讲述。报告最好以书面形式提交。报告形式（图1和图2）可以通过致电USP或者通过传真反馈系统获得。从业人员也可以登录USP网站在线获得。

为了报告药物治疗错误，提交给USP的药物治疗错误的信息会进入国家公认的数据库。这个数据库系统地追踪、监控及分析这些药物的错误。USP开发了培训资源和资料以给学生和从业人员传授最佳的解决方法和避免错误的策略。

MER计划是在与药物治疗安全机构合作下提出的，MED WATCH是合作伙伴，后者是FDA的医用产品报告计划。尽管FDA通常声称其权限不涉及与药物错误有关的实际问题，但是还会涉及产品质量问题，如标签、包装及产品名称（包括注册和未注册药品）。当药物治疗错误涉及产品标签、包装通过MER Program报道出来时，药物生产商被通报。他们很快会做出反应，并且自动地更改标签及包装。取决于药物治疗错误的性质，MER Program为FDA和生产商之间进行商讨提供了资料。如果理由充分，将调整以前的做法。此外，报告中的信息推测更广泛的问题，这些问题可以成为研究所和工业界更广泛交流的基础。从业人员报告的内容促进了USP、FDA及众多药物生产商开始许多变革，提升药品质量，致力于更安全的药物处方及应用。

3. 基于机构的报告系统可以明确说明错误的名称

因为USP在药物治疗错误预防方面的领导地位和经验，他们开始接收来自医院的咨询，寻求建立全国性的标准资料库，这个资料库可以帮助他们满足鉴定的需要，以及比较不同医院之间的药物治疗错误率。只有报告以匿名方式被分享时，医院才愿意和其他参与的医院一起分享有关副作用的经验。1998年，USP开发了MedMARx℠——一个互联网上关于医院药物治疗错误的资料库。提交上去的资料是匿名的，因此，参与的医院可以公开共享信息。这个资料库构成医院内部质量改进计划的一部分，不仅可以收集药物治疗错误的信息，而且每个医院可以采取预防措施以对错误进行回应。这个国家的数据库有价值的地方是能够使医院练习风险预防，而不仅仅是风险的管理，而且可以了解其他医院不幸的经历。这个资料库希望会成为丰富的知识库，不仅针对医院，而且针对制药行业。

4. USP对药物治疗错误的第一个顾问团

1996年，USP为药物治疗错误建立了一个特别顾问团。这个顾问团的任务是审查来自于USP MER计划中从业人员的报告，并且提出与USP的标准设置、信息和报告计划相关的建议。这个顾问团的主席也拥有独有的机会，即向国家药物治疗错误报告及预防统筹理事会（NCC MERP）提出更广泛的建议。顾问团主席是NCC MERP的前任官员。

对卫生保健专家来说，USP顾问团是一个重要的机会，对全国性的药物治疗错误事件可以提供同等审查并为药物治疗错误的预防提出具有深远策略的建议。

顾问团由12个积极而有实践经验的志愿者组成，他们来自于医生、护士及药剂师。几年前建立了一个药物应用安全专家委员会，取代了这个顾问团。随着委员会的成立，一个正式机构在标准发展过程中成立了，其目的是直接提供从业人员信息，为药物安全应用建立标准。

5. 国家统筹理事会的发起

MER计划进行几年后，USP意识到通过程序确定的对大量问题所选择的解决办法已经远远超过其设定标准能力范围。实际上，药物应用错误的起因是多学科的，诱因是多因素的。其他与实践相关的以及与过程相关的错误需要说明。1995年，USP率先成立NCC MERP。NCC MERP促进了与专业实践、健康产品、程序及系统（表1）等相关的药物治疗错误的报告、理解及预防。理事会是由20个国家组织机构和代理处组成的，代表了健康产业、工商、健康保健器械、药品生产商、管理者、标准制定人以及其他行业等（表2）。USP是理事会的创办者和秘书处。

Y

MEDICATION ERRORS REPORTING PROGRAM

Medication Errors Do Occur

Medication errors can occur anywhere, any time along the drug therapy course, from prescribing through transcribing, dispensing, administering, and monitoring. An error can cause confusion, alarm, and frustration for the health care provider and for the patient. And YES, an error can even cause a death or injury to your patient. The causes of errors are many; for example, lack of product knowledge or training; poor communication; ambiguities in product names, directions for use, medical abbreviations, handwriting, or labeling; job stress; poor procedures or techniques; or patient misuse. Along this continuum, any health care professional may be the cause of or contribute to an actual or potential error.

A Safer Environment for Your Patients

It is important to recognize that health care providers learn from medication errors. By sharing your experience through the nationwide USP Medication Errors Reporting (MER) Program you help your colleagues to gain an understanding of why errors occur and how to prevent them. You can also have a positive impact on the quality of patient care and influence drug standards and information. When others are informed about an error, the chance of recurrence may be lessened. Education regarding medication errors assists health care professionals to avoid errors by recognizing the circumstances and causes of actual and potential errors.

Easy Access

Just call 800-233-7767 to reach a USP health care professional, who will take your report and respond to your concerns. Reports may also be submitted in writing or faxed. All reported information is reviewed by USP for possible impact on USP standards and information development. Reports are forwarded to the Food and Drug Administration, the ISMP, and when appropriate, the product manufacturer/labeler. If you wish to remain anonymous to any of these sources, the USP will act as your intermediary in all correspondence. While including your identity is optional, it does allow for appropriate follow-up with you to discuss your observations or provide feedback.

USP: A Partner in MEDWATCH

The USP Practitioners' Reporting Network is a partner in MEDWATCH, the FDA's medical products reporting program. As a partner, USP PRN contributes to the FDA's efforts to protect the public health by helping to identify serious adverse events for the agency. This means that your reported information is shared with the FDA on a daily basis, or immediately if necessary.

USP PRN®

The USP PRN® is designed to collect experiences and observations from health care providers through three separate reporting programs:

- The USP Drug Product Problem Reporting Program
- The USP Medication Errors Reporting Program
- The USP Veterinary Practitioners' Reporting Program

The Institute for Safe Medication Practices, and the American Veterinary Medical Association cooperate in presenting the USP PRN.

Your Input Could Make the Difference!

USP PRN...CALL US WHEN YOU NEED US.

USP

U.S. Pharmacopeia
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790

NO POSTAGE NECESSARY IF MAILED IN THE UNITED STATES

BUSINESS REPLY MAIL
FIRST-CLASS MAIL PERMIT NO 39 ROCKVILLE MD

POSTAGE WILL BE PAID BY ADDRESSEE:
DIANE D COUSINS RPh
THE USP PRACTITIONERS' REPORTING NETWORK
12601 TWINBROOK PARKWAY
ROCKVILLE MD 20897-5211

图 1 USP 药物治疗错误报告计划表格

Y

MEDICATION ERRORS REPORTING PROGRAM

USP MEDICATION ERRORS REPORTING PROGRAM

Presented in cooperation with the Institute for Safe Medication Practices

The USP Practitioners' Reporting Network℠ is an FDA MEDWATCH partner

☐ ACTUAL ERROR ☐ POTENTIAL ERROR

Please describe the error. Include sequence of events, personnel involved, and work environment (e.g., code situation, change of shift, short staffing, no 24-hr. pharmacy, floor stock). If more space is needed, please attach separate page.

Was the medication administered to or used by the patient? ☐ No ☐ Yes Date and time of event: _____

What type of staff or health care practitioner made the initial error? _____

Describe outcome (e.g., death, type of injury, adverse reaction). _____

If the medication did not reach the patient, describe the intervention. _____

Who discovered the error? _____

When and how was error discovered? _____

Where did the error occur (e.g., hospital, outpatient or retail pharmacy, nursing home, patient's home)? _____

Was another practitioner involved in the error ? ☐ No ☐ Yes If yes, what type of practitioner? _____

Was patient counseling provided? ☐ No ☐ Yes If yes, before or after error was discovered? _____

If a product was involved, please complete the following:

	Product #1	Product #2
Brand name of product involved		
Generic name		
Manufacturer		
Labeler (if different from mfr.)		
Dosage form		
Strength/concentration		
Type and size of container		
NDC number		

If available, please provide relevant patient information (age, gender, diagnosis, etc.). Patient identification not required.

Reports are most useful when relevant materials such as product label, copy of prescription/order, etc. can be reviewed.
Can these materials be provided? ☐ No ☐ Yes If yes, please specify. _____

Suggest any recommendations you have to prevent recurrence of this error or describe policies or procedures you have instituted to prevent future similar errors.

A copy of this report is routinely sent to the Institute for Safe Medication Practices (ISMP), to the manufacturer/labeler, and to the Food and Drug Administration (FDA). **USP may release my identity to: (check boxes that apply)**

☐ ISMP ☐ The manufacturer and/or labeler as listed above ☐ FDA ☐ Other persons requesting a copy of this report ☐ Anonymous to all

Your name and title

Your facility name, address, and ZIP

Telephone number
(include area code)

Signature

Date

Return to the attention of:
Diane D. Cousins, R.Ph.
USP PRN
12601 Twinbrook Parkway
Rockville, MD 20852-1790

Call Toll Free: 800-23-ERROR (800-233-7767)
or FAX 301-816-8532
USP home page: http://www.usp.org
Electronic reporting forms are available. Please call for additional information and/or your free diskette.

Date Received by USP:

File Access Number:

M1996DM

Additional forms can be found in the *USP DI Vol. I* and *Vol. III*.

图 2 USP 药物治疗错误报告计划表格

Y

表 1 NCC MERP 的远大目标及所包含的保健目标

NCC MERP 的目标
调查评估药物治疗错误的起因
通过健康系统增强对药物治疗错误的意识及预防措施
推荐与系统的改良、实践标准和指南相关的策略
促进药物治疗错误报告和评价的发展和应用，促进国家系统的报告以利于审查、分析、发展、建议，以减少和预防药物治疗错误的发生

注：由 1998～1999 年国家药物治疗错误报告和预防协调理事会版权所有。

表 2 NCC MERP 的成员是多学科的，代表了健康产品和服务上的交叉功能团队

药物治疗错误国家统筹理事会：报告和预防组织代表
美国退休人员协会
美国保健协会
美国医院协会
美国医学协会
美国护士协会
美国制药协会
美国药剂师顾问社团
美国健康系统药剂师社团
美国健康风险管理社团
退伍军人事务部
食品药品监督管理局
药学协会
保健品销售管理协会
药物安全性治疗研究所
保健机构委派的联合委员会
国家药学部协会
国家护理委员会
美国药物研究及生产商
美国药典

自从委员会成立以来，已经产生了一些重要的工作成果。这些成果包括药物治疗错误的标准化定义、一系列减少药物使用过程中产生错误的建议，和采用了一个严格的药物治疗错误分类的索引。“纠正处方书写错误倾向的建议”是由委员会发布的第一个建议，包括“危险缩写”列表、经常被误解的缩写或者经常包含在错误中不应该再使用的缩写（表 3）。除了用在处方书写中，这些缩写可以出现在专利产品名、生产商的产品标签和生产商发行的广告中。生产商应避免使用这些缩写来支持这项建议。委员会也提出了更广泛减少标签和包装引起错误的建议。这些建议的对象是管理部门、标准制定部门、健康组织、专业人员和生产商（表 4～表 7）。委员会建议的重要性在于它是一个由来自不同组织的共同倡议，涉及范围从安全问题专家到药品生产商到管理部门。通过国家领导的保健和消费组织的协作努力所达成的重要共识促进了采用这种系统方法，以减少药物治疗的错误。

表 3 由于误译或是曲解引起的具有危险性的缩写

缩写	意指	通常的错误
U	单位	由于误解为 0 和 4 而导致服药过量，另外，写法潦草时错误地认为是“cc”（立方厘米）
μg	微克	误解为“mg”（毫克）导致服药过量
Q. D.	“每天”的拉丁缩写	在“Q”后句点有时误解为有“I”，药物给予“QID”（每天 4 次）而不是每天 1 次
Q. O. D.	“隔天”的拉丁缩写	误解为“QD”（每天）或者“QID”每天 4 次。如果“O”潦草，看起来像“I”
SC 或者 SQ	皮下	书写潦草时误解为“SL”（舌下）
TIW	一周 3 次	误解为“一天 3 次”或“一周 2 次”
D/C	出院，停止	因为 D/C 列在药物单据下面，当它（实际上是出院）被误解为“停止”时，患者的用药已经被过早地停止
HS	一半的浓度	误解为拉丁缩写“HS”（睡眠时间）
cc	立方厘米	误解为“U”（单位）
AU，AS，AD	拉丁缩写双耳，左耳，右耳	误解为拉丁的缩写“OU”（双眼），“OS”（左眼），“OD”（右眼）

表 4 对药品和器械厂商有关药物标签和包装的建议

（1997 年 5 月 12 日被采用）

理事会建议厂家除搬运性警示外，不要在血管注射剂瓶帽和金属环上打印
理事会鼓励厂家在装置设计中采用失败模式和效果分析，在药物包装、标签及相关的装置设计也是如此
理事会鼓励厂家在药物产品标签上使用易读的机械编码（如条形码）。理事会意识到这些使用的编码标准化的重要性
理事会鼓励在注射剂两侧、静脉注射袋、容器以及透明外包装纸上打印药物名称（商标和通用名）和浓度。对于大剂量非胃肠道用药和静脉用药（小包装的），这些药物的名称在正置或是倒置位置应是易读的
理事会鼓励厂方支持针对其产品的正确开处方和服用的持续再教育计划
理事会建议厂家使用新标签来帮助从业者辨别名字相似的产品，例如，大写字母的使用 VinBLAStine 和 VinCRIStine
理事会建议厂家避免公司的标识语和名字比药物名字大
理事会鼓励厂商、管理者、标准制订者、健康专家以及患者之间互相协作，以利于包装和标签的设计，使错误最小化

注：由 1998～1999 年国家药物治疗错误报告和预防协调理事会版权所有。

表 5 对管理者和标准制定者有关药物标签和包装的建议（1997 年 5 月 12 日被采用）

理事会建议 FDA 除搬运性警示外，不要在注射剂瓶帽和金属环上进行打印
理事会建议使用新标签以帮助从业者辨别名字相似的产品，例如，大写字母的使用 VinBLAStine 和 VinCRIStine
理事会建议 FDA 禁止厂家把公司的标识语和名字打印得比药物名字大
理事会支持 USP-FDA 顾问小组的建议，对注射剂标签进行简化。此外，理事会鼓励 USP/FDA 将简化概念的扩大应用于包装说明书、其他药物剂型的标签
理事会鼓励 FDA 在错误预防分析方面的进一步发展，提供对有错误倾向的产品标签、包装持续的管理审核
理事会鼓励厂商、管理者、标准制订者、健康专家以及患者之间互相协作，以利于包装和标签的设计，使错误最小化
理事会鼓励 USP/FDA 检查容器的设计和急救药物上可触摸标识应用的可行性及是否合适。这些标识可能在容器中或嵌入标签中
理事会鼓励在注射剂两侧、静脉注射袋、容器以及透明外包装纸上打印药物名称（商标和通用名）和浓度。对于大剂量非胃肠道用药和静脉用药（小包装的），这些药物的名称在正置或是倒置位置应是易读的

注：由 1998～1999 年国家药物治疗错误报告和预防协调理事会版权所有。

表 6 对健康专业人员的建议以减少药物标签和包装及相关装置错误（1998 年 3 月 30 日被采用）

理事会鼓励健康专业人员对患者和健康从业者进行常规地培训，促进他们对药物及相关设施的理解和正确使用。此外，理事会鼓励健康专业人员常规地参与错误预防培训课程，当药物治疗错误发生时，积极参与到调查中。另外，关于减少药物标签和包装及相关装置错误，理事对健康专业人员有以下建议：
1. 理事会鼓励健康专业人员只使用有完整标签及正确储存的药物，并仔细阅读标签（至少三次：使用前，期间，使用后）
2. 理事会鼓励健康专业人员、健康组织、患者、厂商、标准制订者、管理者之间互相协作，以利于包装和标签的设计，使错误最小化
3. 理事会鼓励健康专业人员在审核和评论关于标签、包装方面的标准和规章中起到积极的作用（如联邦注册和药典讨论会）
4. 理事会鼓励健康专业人员将存在的和潜在的药物治疗错误报告给国家［如 FDA 药物观察机构和（或）USP 从业者报告网站］，行业内、地方的报告机构
5. 理事会鼓励健康专业人员与他们的同事通过信件、期刊、公告分享与错误相关的经验、研究案例等

注：由 1998～1999 年国家药物治疗错误报告和预防协调理事会版权所有。

表 7 对健康组织的建议以减少药物标签和包装及相关装置错误（1998 年 3 月 30 日被采用）

理事会建议健康组织建立一个报道、理解、预防药物治疗错误的系统。组织领导人应该培养和建立包括以下要素的文化和制度：
1. 有益于通过 FDA MedWatch 和（或）USP 从业者报告网站报告药物治疗错误的环境
2. 改进药品使用过程的环境
3. 报告内部存在的和潜在的错误，包括鼓励报告策略的机制
4. 健康组织对存在和潜在的错误诱因鉴别和评价的系统方法，包括错误模式与结果分析（FMEA）以及错误根源的分析
5. 通过改进系统和个体性能，采取适当行动以避免将来错误的步骤
另外，为减少药物标签和包装及相关装置错误，理事会对健康组织提出以下建议：
1. 理事会建议健康组织在药物使用管理方面使用机器易读的译码（如条形码）
2. 理事会建议健康组织重新评估现有药品存储系统，建立合理的机制保证从药品的大批运输到使用地点有合适的存储及场所。当应用时以下问题应该考虑：存储和放置场所要能区分相似产品；有潜在高危性的特定药物的存储和放置场所（如浓缩药品，麻痹药品）；存储范围、通道、药品基本储备说明；在药剂师不在现场时，对药品要有安全装置、有权使用的说明（例如，药品基本储备，几小时后取消到药房的权力）；给患者的药物的标签和包装
3. 理事会建议改进药物的重新包装政策和程序，将会使标签清晰进而避免错误的发生
4. 理事会鼓励健康组织、健康专业人员、患者、厂商、标准制订者、管理者之间互相协作，以利于包装和标签的设计，使错误最小化
5. 理事会建议健康组织为健康专业人员、技术支持人员、患者、保健从业者建立并完善教育和培训，这是减少和预防药物治疗错误的方法

注：由 1998～1999 年国家药物治疗错误报告和预防协调理事会版权所有。

工厂避免失误的策略——产品以外的设计错误

USP 的药物治疗错误报告计划没有覆盖到一些有发生错误倾向的情况，这种情况能够帮助工厂提前考虑一些问题，从药品名称的选择开始，到标签的设计、剂量。这样的实例在这里提出了一些。许多时候，生产商能迅速和顺利地改正缺点。这些将会被当成工厂响应的显著例子。这些案例也将提供一些在标签或包装上应该避免的设计。最后，这些案例说明了由于与包装设计合作系统的原因产品是怎么样被错用的。

Y

产品错误的特征

应当记住，药物治疗应用程序是一个复杂连续的过程，这个过程需要健康专业人士、科学家和患者多方面的成功协作。这可以描述为一个连续的结合，但又有独立的区分，称之为节点（表 8）。事实上，药物治疗过程中的每一个节点是一个不连续的系统，都可能有发生事件和预防错误的机会。

表 8 药品使用连续统一体中的节点

药物使用过程中的节点
开处方
存档
分发
给药
监测

依赖于研究的方法学、事件汇报系统、风险管理和总的质量改良系统，药物治疗错误在许多方面已经明确。USP 使用了来自于 NCC MERP 的更广泛的药物治疗错误定义。

药物治疗错误是可预防的、能够导致不恰当的药物使用和患者伤害的事件，同时药物治疗是健康专业人士、患者或者消费者可以控制的。这类事件的发生与专业实践、健康产品、程序和系统有关，包括：处方；医嘱；产品标签、包装和命名；成分；调剂；分发；给药；管理；教育；监测和使用等各个方面。

充分记录药物治疗错误资料可以提供关于错误严重性的信息，这些信息与以下因素有关：对患者产生的后果、涉及的产品、人员处理药品的水平、任何导致药品错用的因素、可疑的错误根源等。USP 在 MER 规则资料中增加了一定的编码来区分报告的错误。这些编码包括错误的类型和其可能的原因。表 9 中列出了已经被记录 9 年以上的产品特征，这些特征已经引起或者造成药物治疗错误。

表 9 报告给 USP 的药物治疗错误方面的产品特征

缩写——包括在药物名称和说明书中的符号和取首字母的缩写词
药物制剂混淆——由于与另外一种药物相似的颜色、记号、形状和（或）大小，或者同样的药不同的剂量而造成混淆
设备设计的混乱和不当——例如，给药泵很难设置准确的流速或者混乱的使用
标签（生产厂商）的设计——标签的结构设计，如标签信息及背景的差异性，字体、符号或是标识语不能引起注意或者不易读懂
测量设备不精确或是不恰当——医用设备（如注射器、点滴器）的刻度在称量正确剂量时不精确或不相称
不同产品的名称，商标名/通用名看起来相似——自我解释
不同产品的名称，商标名/通用名听起来相似——自我解释
名称，商标名看起来相似——不同产品的商标名看起来相似
名称，商标名听起来相似——不同产品的商标名听起来相似
名称，通用名看起来相似——不同产品的通用名看起来相似
名称，通用名听起来相似——不同产品的通用名听起来相似
非公有制度量单位的测量（药剂师）——药剂师使用的度量单位书写不规范导致误解（如“cc”为立方厘米），误写为“U”（单位）
包装/容器设计——包装、袋子、注射器等的设计引起或导致错误
相似的包装/标签——例如，两种或是多种不同产品的包装/标签外观相似，导致一种产品与其他产品弄错

制药厂商应该在药物研发的早期，包括临床阶段，关注这些条款。几年前，在临床试验阶段，药物齐多夫定（一种抗病毒药）被写为“AZT”。这个缩写在产品上市时随之使用。然而，“AZT”已经是咪唑硫嘌呤（一种免疫抑制剂）常见的缩写，因而发生了几起误用事件。药品协会报告[1]建议 FDA 建立和加强药物包装和标记的设计标准，使药物使用的安全性达到最大限度。表 9 提供了检查此领域的起点。

1）案例 051133：差的标签设计；混淆的或不完整的标签信息；包装

急诊室（ER）需要给一个儿科患者静脉注射 150mg 的 Cerebyx®（磷苯妥英，一种抗惊厥药）。药剂人员接到需要 Cerebyx® 的请求，作为一个“基本储备”处理，分发了三个每毫升 Cerebyx® 含有 50mg PE（苯妥英钠等价物）的 10mL 玻璃瓶包装的 Cerebyx® 给急诊室。然后护士错读了 10mL 包装瓶中 50mg PE/mL，当成是整个包装瓶中含有 50mg PE。所有三个包装瓶的内容物均给予患者。患者被给予了 10 倍于应该给予的剂量，不是 150mg PE，而是 1500mg PE。患者不久后死亡。患者血中的苯妥英钠水平检测结果从实验室返回后，急诊室的人员才发现错误。

讨论：严重的药物治疗错误，包含一些可以导致死亡的错误，源自 Cerebyx® 药品标签的注解。先前标签上的术语显示的浓度是每毫升 50mg PE，被错误理解成每瓶总 PE 含量。据说，健康专业人士也被“磷苯妥英钠”弄糊涂了，前体药物的概念被用来介绍这个药品。因此严重过量的磷苯妥英被错误地使用。

磷苯妥英是一个前体药物，在体内经过化学转化变成具有治疗活性的苯妥英。Cerebyx® 剂量是以 PE 表示。在苯妥英钠盐和磷苯妥英钠盐之间存在简单的治疗剂量转换（例如，500mg 的苯妥英钠盐注射剂相当于 500mg PE 的磷苯妥英钠盐注射剂）。生产厂商指出通过使用 PE，当苯妥英钠盐转换成 Cerebyx®，处方不需要进行剂量调整，反之亦然。为了减少剂量错误造成的危险，所有健康从业者应当在开处方和分发 Cerebyx® 中用 PE。

Parke-Davis 已经采取行动预防未来错误的发生。Cerebyx®瓶装的标签及包装已经被改变为强调每瓶中药物总量。对 2mL 瓶装和 10mL 瓶装的产品都是有效的。尽管新的标签更加明确了药瓶中药物的总量，Cerebyx® 的浓度仍然维持在 50mg PE/mL。

2）案例 51832，51845：生产线的扩充导致混淆

Muro 制药公司提出一种新的产品延伸，从 Prelone® 糖浆 5mg/5mL（氢化泼尼松，甾体类化合物），到它的延伸产品 Prelone 15mg/5mL。因为单一浓度的 Prelone 已上市很多年，凭借通常的经验，开处方者写 Prelone 糖浆时不需要指明其浓度。

讨论：生产厂家需要考虑从业人员所需要的过渡时间，这段时间可以熟悉新浓度的出现。当长效制剂加入到产品线中时，剂量发生改变，以减少频繁的用药间隔，这种类型的混淆也可以看到。处方中产品名称没有指定长效名称和药物治疗错误的结果。在相似的案例中，后缀也会导致错误，当产品延伸增加了第二个浓度并放置了一个后缀，诸如“XL”放在产品名称后面来表明长效释放。处方者由于习惯而忽略了后缀（由于最初的制剂），患者在长效的用药间隔内得到了短效的药物治疗。

Muro 制药公司预料到一个已上市药物的新浓度必然会导致混淆，为两个浓度的药物开发新的包装。Muro 向 32 000位儿科医师、65 000 家药房、批发商、卫生维护组织、生产组织发邮件，声明了两种浓度的 Prelone 的使用。

3）案例 50446，50499，50519，50534，50736，50820，50918：很差的对比度影响易读性

单位剂量包装的 quinolone Levaquin（左旋氟氯西林，一种抗菌剂）是银底黑字，剂量是暗色的。一个记者注意到包装被拿起后在正确的角度才可读到标签。据报道，区别 250 mg 和 500 mg 特别困难，这是因为这两个数字很难认出来。

讨论：Ortho-McNeil 为 Levaquin 重新设计了包装增强其易读性。厂商应该意识到从业者经常在光线不佳的区域进行操作，这使得为预防错误而进行的标签双检会更加困难。对于一些产品，由于缺乏对照，第一次接触时没有充足的时间来对其标签进行仔细阅读。据报道，由于没有对照和没有纸质标签帮助从视觉上区分它们，采用塑料制品容器中浮凸印刷术很难阅读。

4）总量是关键

来自于药学家的 8 篇报告表达了对 Bentyl®（盐酸双环胺，止痉挛的药）2mL 安瓿标签的关心。从业者报告这种标签仅仅表明药物的浓度，10mg/mL，而没有总体积。一些从业者确信标签信息是不完整的。在其中一个报告中，开了 20mg 的剂量，但是却给予了 2 安瓿（4mL 总量替代了 2mL），导致服药过量。其发生是由于报告者把 10mg 作为总量误认为是一瓶的总量。

讨论：Hoechst Marion Roussel 的报告促使公司返回采用了原来具有产品总量的旧标签，这种改变要尽快执行。

提交 USP 的报告已经确定了出现在瓶子或安瓿上必需的三种信息：①总体积；②每毫克浓度；③总体积中的总浓度。

尽管一些厂商感觉在容器上（尤其是 1mL 和 2mL 的容器）包含这些信息是没道理的，但是这些信息能确保很少有机会错误地理解容量或是浓度。

5）案例 040925，050419，041485：标签相似引起批发商的错误

一个药剂师报道了 Marsam's 头孢唑啉钠盐 1g 和 10g 的瓶外观形状相同，并且有相同颜色的开关。药房从批发商订了 1g 的产品。但是，批发商发送了 10g 瓶装的头孢唑啉钠盐和 1g 瓶装的滞销货。药房没有正常地存储 10g 瓶装药，将 10g 包装和 1g 瓶包装混合存储。一些瓶子被错误地放在一起。幸运的是没有患者使用错误剂量的头孢唑啉钠盐。

另一个报道的事件，一个药剂师订 10g 瓶装的头孢唑啉钠盐却错误地收到 1g 瓶装药。打算重新组装，把 10g 瓶装分装成 1g 剂量。药房技师没有注意稀释到低浓度的是 1g 瓶装，并继续把每瓶的总液体分成 10 份 100mg 剂量。其中一些准备好的 100mg 剂量的头孢唑啉钠盐分发给患者而取代原定的浓度 1g 剂量。还好没有引起副作用的报道。药剂师感到错误已经发生，部分因为瓶子是相同的，标签也很相似。

讨论：药剂师建议 10g 瓶开关处的颜色应改换。公司答复说尽管采用不同颜色的标签或开关来区别产品线或浓度很常见，还要试着用其他方法来区别每个药物，例如，改变标签的类型和格式。Marsam 修改 10g 瓶装头孢唑啉钠盐的标签以助于与 1g 单剂量瓶装区别。新近修改的标签包括以下方面：

- 在边侧的两个位置加了单词“BULK”
- 包装盒子产品名称的四周加了遮蔽的颜色
- “10g”用彩色印刷
- 标签背面的产品名称和浓度用彩色印刷

颜色区别的方法很受欢迎，然而颜色码的使用却相反，因为颜色种类数量有限，我们人类中存在色盲，不合适地依赖颜色来代替标签的阅读。

6）案例 042031：包装计量装置

一份医嘱上写 30mg 的环孢菌素（一种免疫抑制剂）口服溶液给予一名儿科患者。然而，接连几天，护士给予的剂量是 300mg，相信这个注射器是以毫克而不是以毫升来校正的。口服溶液可以为 100mg/mL。药剂师回顾错误的时候，他注意到装药的注射器在设计理念上从来没考虑到儿科患者。这种注射器不可能计量少于 50mg 的剂量。这也能理解护士是如何将 3 的刻度当作是 30mg——这是介于“2，5”和“3，5”之间（欧洲对十进制数字 2.5 和 3.5 的

表达方式）。为了协调全球的药物市场，生产厂商选择遵从欧洲数字表达的习惯，逗号和小数的表达正好与美国方式相反。

讨论：这种错误是不常见的，因为它涉及全球商业问题。厂商将愿意协调美国药物市场上的产品与其他市场上的产品。如果药物制剂集中在药房，这个错误可能会避免。

其他报告给 USP 的涉及药物分装设备的错误包括提供给特定药品设备的交叉使用。每个包装药物的设备应该根据输送这种药品的液体的黏度和浓度来校准。这些设备不能以任意标准校准；一些以毫克来校准，其他的以毫升校准，还有一些以立方厘米校准。甚至有一些是以每滴或每茶匙的浓度来校准。应该出台相应的政策以便明确药品的点滴器和校正杯的使用和分发只限于这些药物。生产点滴器的厂商应该提供足够多刻度的点滴器以便分液体时能达到可用的体积。例如，一个公司只提供一种 226.8g 瓶装的硫酸吗啡的点滴器，但是普通的分装量是 56.7g 和 113.4g。此外，生产厂商应根据分发每个用药医嘱的体积来包装药物。

7）案例 52348：缩写

USP 收到药物治疗错误的报告涉及 Neumega®（Opelvekin）和 Proleukin®（Aldesleukin）。Opelvekin，一种人类重组白细胞介素-11 产品，能够刺激化疗患者的血小板再生，有时候缩写为 IL-11。Aldesleukin，一种人类重组白细胞介素-2 衍生物，治疗特定转移性肾细胞癌的患者，有时缩写为 IL-2。

在报道药物治疗错误报告中，当给患者医嘱 Opelvekin 时，使用的是缩写 IL-11。这份医嘱被误解为 Interleukin-2（例如，11 这个数字可以让人感觉到是罗马数字Ⅱ）。5 位甚至更多的健康专业人员，包括药剂师和护士，误解医嘱为 Aldesleukin。连续 4 天这个错误没有被发现，直到 Aldesleukin 的存货几乎用完时才发现。

讨论：当收到这些白细胞介素医嘱时，从业人员应特别地警惕。如果医嘱中使用了缩写，需要澄清医嘱，以确保患者接受正确的药物。药物治疗错误证明了执行处方规则的价值，就像 NCC MERP 采纳的建议。尤其是开处方时，开处方者应避免使用缩写，包括那些药物名称的缩写。药物名称不应使用缩写。参考材料有时提到缩写词，以作为已批准的药品名称的同义字。生产厂商应该禁止使用缩写词，因为这会潜在的引起药物治疗错误。

以下案例证明了药物是由于接触什么样的系统而被误用的。

8）案例 052718：涉及电子药物的产品

一个药剂师问一名临床药师关于 Cartia 的一些信息。因为一个电子药物参考书列出活性成分为阿司匹林，药剂师准备用阿司匹林替代 Cartia。临床药师认出这个新药 Cartia XT（地尔硫䓬，一种钙通道阻滞剂）并阻止了这个错误的发生。

Cartia XT 的厂商与报道者共同关注这个问题，并找出电子证明书的原始资料对其进行研究。电子证明书出版商声明称作 Cartia 的水杨酸盐产品是在澳大利亚的 Portugal 和 Smithkline Beecham 由 Lusofarmaco 生产出来的。所有 Cartia 产品被出版商当作具有活性的最新产品检验。出版商说绝不可能把 Cartia 排除在外国市场，因为它是从一个成熟的资料库中引入的具有活性的产品，这个资料库包含有许多国外药物。这个电子参考书一年出版四次。Cartia XT 进入了最近发给消费者的资料库，消费者现在可以选择 Cartia 或者是 Cartia XT。这将减少产品间的混淆。

由于很多药物证明书有复印版本，电子药物证明书在产品和消费者收到证明书资料库间时间不同步。不幸的是，这将导致不准确/过期的信息以及现今的药物信息的过于冗长，会引起混淆以及使用者对药物信息的曲解。健康保健提供人应该认识到证明书的原始资料，包括电子证明书资料库，并不是确实可靠的，并且它们只是对内容的信息更新有所帮助。作为一个安全措施，健康保健提供人应当做一些训练，来检查至少两种不同的药物信息原始资料以确定信息的正确。

9）案例 52125：计算机和程序软件

一个药剂师为一个患者调剂 Diflucan（抗真菌药），这个患者正在接受 Propulsid（胃肠辅助排空药）治疗，这两种药物具有有记录的药物交互作用。药房的计算机系统有多药物交互作用界面。药剂师通过点击“下个界面”，经过了这些界面，系统对这个危险的相互作用没有阻止。患者接受了 2 个剂量的 Diflucan。第二天，患者死亡。

10）案例 51088

按照医嘱，一个患者静脉注射 12mg 的秋水仙碱（抗痛风药）而不是 2mg 后腹泻而死。药剂师与医师联络，而医师坚持认为剂量是对的。计算机程序没有警告危险的剂量，而护士没有意识到她们给的药物是过量的。

11）案例 50908

阿莫西林被开处方并发放给青霉素过敏患者。患者病历前页没有标明过敏，而显示过敏问题的名单被归错文档所覆盖。药房软件程序没能显示出过敏，而药品没有标示任何过敏。

12）地高辛——儿科酏药

因为计算机输入毫克剂量的单位受限，一婴儿患者给予 20μg 地高辛的剂量在输入计算机前要转变成相应的毫克剂量。一药剂师不能正确转化 20μg 的剂量，将 0.2mg 输入计算机（而不是 0.02mg）。因此，患者接受了 4 个 200μg 的地高辛剂量，而不是像医嘱中的 20μg 剂量。在错误被发现前，患者产生地高辛毒性反应。

13）一茶匙的量与毫升

当一些数字不跟着容量单位如“mL”时，计算机程序

默认会打印“一茶匙的量”作为剂量。处方为 1/2mL 沙丁胺醇糖浆每 6 小时一次，给予 9 周大的婴儿。到达药房后，药剂师把“1/2”输入到计算机内，但是没有输入 mL。由于默认，标签上打印出 1/2 茶匙每 6 小时，喘时服用。这个婴儿被给予了过量的药物而进入医院重症监护室。幸运的是，这个孩子没有受到永久性损伤。

14）1 与 1/2

新的计算机软件可以用于输入说明书，对于剂量为 1～2 茶匙量的止咳药物。新的软件打印出来的标签为 1/2 茶匙。药剂师没有检查与处方不一样的标签，随着标签上不正确的说明一起分发了药品。

讨论：计算机系统在今天的药房工作中成为重要的工具。计算机处理处方快速、简便并且高效。计算机同样给患者提供易于使用的信息。然而，对计算机系统依赖性越来越强，需要注意的是现在不要完全依赖计算机，而要进行检查来避免错误的发生。

15）相似的药品名称

相似的药品名称引起的混淆，写和说都会遇到，占有 USP MER Program 报告总数的 1/4。这种混淆是由于书写字迹潦草难以辨认、对药物名称不完全了解、新药品、相似的包装或标签以及相似的名称从计算机处理的产品目录中不正确的选择。USP 列出一份曾经报道过的超过 1000 对容易混淆药物名称的目录。生产厂商在选择药物名称应当参考这份目录。最近，USP 投票决定将 Amrinone 改为 Inamrinone，其与 Amiodarone 易混淆导致致命错误。这种类型的改变对厂方来说成本太高，通过事先考虑未来潜在的类似之处可以避免这一点。技术和试验方案，包括声音和书写的识别，有助于确定是否一个药品的名称与另一个看起来或者听起来相似。

总结

预知错误并且避免错误的能力是人为因素操纵的科学研究的焦点。这种科学应用到药物的使用过程中可以帮助我们预测药物治疗错误发生的概率。药品生产商应该设计出包括名称、标签、包装的产品以便避免错误，结果是安全和健康的。

参 考 文 献

1. Institute of Medicine. To Err is Human: Building a Safer Healthcare System; www. nas. org (accessed Dec 1999), November 1999.
2. Bates, D. W.; Spell, N.; Cullen, D. J.; Burdick, E.; Laird, N.; Peterson, L. A.; et al. The Costs of Adverse Drug Events in Hospitalized Patients. J. Am. Med. Assoc. 1997, 277 (4), 307－311.
3. Phillips, D. P.; Christenfeld, N.; Glynn, L. M. Increase in U. S. Medication-Error Deaths between 1983 and 1993 [Research Letter] . Lancet 1998, 351, 643－644.
4. Bates, D. W. Frequency, Consequences and Prevention of Adverse Drug Events. J. Qual. Clin. Pract. 1999, 19, 13－17.
5. Flynn, E. A.; Barker, K. N. Medication Errors Research. Medication Errors; Cohen, M. R., Ed.; American Pharmaceutical Association: Washington, DC, 1999; 6. 4－6. 5.
6. Bates, D. W.; Cullen, D. J.; Laird, N.; Peterson, L. A.; Small, S. D.; Servi, D. S. et al. Incidence of Adverse Drug Events and Potential Adverse Drug Events. J. Am. Med. Assoc. 1995, 274 (1), 29－34.
7. Bates, D. W. Preventing Medication Errors. Medication Use: A Systems Approach to Reducing Errors; Cousins, D. D., Ed.; Joint Commission on Accreditation of Health Care Organizations: 1999; 57－73.
8. Leape, L. L.; Bates, D. W.; Cullen, D.; Cooper, J.; Demonaco, H. J.; Gallivan, T. et al. Systems Analysis of Adverse Drug Events. J. Am. Med. Assoc. 1995, 274 (1), 35－43.
9. Leape, L. L.; Woods, D.; Hatlie, M.; Kizer, K.; Schroeder, S. A.; Lundberg, G. D. Promoting Patient Safety by Preventing Medical Error [Editorial] . J. Am. Med. Assoc. 1998, 280 (16), 1444－1445.
10. Phillips, D. L. “New Look” Reflects Changing Style of Patient Safety Enhancement [Medical News and Perspectives]. J. Am. Med. Assoc. 1999, 281 (3), www. jama. amaassn. org/issues/v281n3/full/jmn0120-1. html (accessed Jan 2000).
11. Bates, D. W.; Miller, E. B.; Cullen, D. J.; Burdick, L.; Williams, L.; Laird, N. Patient Risk Factors for Adverse Drug Events in Hospitalized Patients. Arch. Intern. Med. 1999, 159, 2553－2560.
12. Classen, D. C.; Pestotnik, S. L.; Evans, S. et al. Adverse Drug Events in Hospitalized Patients. J. Am. Med. Assoc. 1997, 277, 301－306.

（杜敏琼　宋浩亮　译）

Y

药学单元操作的原理

Anthony J. Hickey
The Uniwersity of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, U. S. A.
David Ganderton
Vectora Ltd., Bath, United Kingdom

引言

制药工艺以一些基本原则为基础，可分为许多单元过程。下面将主要介绍流体流动、热量传递和质量转移。

流体流动

流体（液体和气体）是一种物质形态，在切应力的作用下不能达到平衡，但只要施加切应力就可以不断地变形或流动。

层流线为假想的没有宽度的直线，它们与流体流动的所有点平行。随着速度的增大，压力减小。物体周围的压力场同速度场成反比。这可能与日常经验相反，然而，它遵循能量守恒定律，可以用 Bernoulli 法则表示。

1. Bernoulli 法则

液体流动时系统中任意一点的总机械能可用势能、压力能和动能表示。

物体的势能是依据物体与某个引力中心的位置关系，物体自身做功的能力。对于单位质量的流体，当超过基准水平的高度为 z 时，势能为 zg。

对于流体流动来说，压力能或流动能是一种特有的能量形式。在流体移动时需要的能量和做的功是压力 P 和体积的乘积。

单位质量流体的体积是密度 ρ 的倒数。对于不可压缩的流体，密度与压力无关，因此，对于单位质量的流体来说，其压力能为 P/ρ。

动能是物体运动产生的能量。如果物体的质量为 m，速度是 u，那么动能为 $1/2mu^2$，对于单位质量的流体来说，动能为 $u^2/2$。

因此，单位质量流体的总机械能为

$$\frac{u^2}{2}+\frac{P}{\rho}+zg$$

当系统内没有能量的得失时，系统内任意两点 A、B 的机械能用方程（1）表示。

$$\frac{u_A^2}{2}+\frac{P_A}{\rho}+z_Ag=\frac{u_B^2}{2}+\frac{P_B}{\rho}+z_Bg \qquad (1)$$

此关系式忽略了在现实系统中由于存在摩擦而损失的机械能。一部分能量在克服流体内因速率梯度产生的切应力时消耗掉了。所以必须考虑流体在 A、B 两点间流动时消耗的能量 E。每个组分的量纲是：L^2T^{-2}（长度^2/时间$^{-2}$）。实际上，每项除以 $g(LT^{-2})$ 得到长度。这些项称为速度差、压力差、势差和摩擦差，流体总差用方程（2）表示：

$$\frac{u_A^2}{2g}+\frac{P_A}{\rho g}+zA=\frac{u_B^2}{2g}+\frac{P_B}{\rho g}+z_B+\frac{E}{g} \qquad (2)$$

动能的评价需要考虑正常流动方向速率的变化。动能：$\mu_{mean}^2/2$，与在流动方向对面的总和所得到的真实动能不同。然而，如果应用校正因子 a，前者能保留，则

$$\text{速度差}=\frac{\mu_{mean}^2}{2ga}$$

在层流中 a 的值为 0.5，在完全涡流中接近 1。机械能是借助泵加到系统的某些点上的。单位质量流体在 A 点所做的功 W（绝对单位）由方程（3）给出。

$$\frac{W}{g}+\frac{u_A^2}{2g}+\frac{P_A}{\rho g}+z_A=\frac{u_B^2}{2g}+\frac{P_B}{\rho g}+z_B+\frac{E}{g} \qquad (3)$$

以某一速率推动流体通过系统所需要的能量可以由方程（3）计算。对应于泵必须做的功，差的总和 ΔH 为

$$\frac{W}{g}+\Delta H$$

如果单位质量流体完成的功和获得的能量为 ΔHg，则在时间 t 传递质量 m 所需的能量为

$$\text{能量}=\frac{\Delta Hgm}{t}$$

单位时间 Q 的体积流量是 $m/\rho t$，所需的能量用方程（4）表示：

$$\text{能量}=Q\Delta Hg\rho \qquad (4)$$

2. 流量测定

Bernoulli 定理也能用于流速的测定。不可压缩流体通过一个收缩部位可以使流体的速率从 u_1 增加到 u_2，同时，压力从 P_1 降到 P_2，这些能够直接测量得到。通过数学重排得到流量流速 $Q=u_1a_1=u_2a_2$（计算过程这里不予列出）。最终线速度 u_2 用方程（5）表示：

$$\frac{u_2^2}{2}-\frac{u_1^2}{2}=\frac{P_1-P_2}{\rho} \qquad (5)$$

流量速度由方程（6）给出：

$$Q=a_2\sqrt{\frac{2(P_1-P_2)}{\rho(1-a_2^2/a_1^2)}} \qquad (6)$$

此推导公式没有对动能的损失进行校正，动能的损失是由于在横截面流动不均匀及通过收缩部位时摩擦引起的能量损失导致的。通过引入一个称为置换系数（coefficient of discharge）的系数 C_D 来对方程进行校正。将 C_D 代入方程（6），得：

$$Q = C_D a_2 \sqrt{\frac{2(P_1 - P_2)}{\rho(1 - a_2^2/a_1^2)}} \tag{7}$$

C_D 的值与流动环境和收缩器的形状有关。对于湍流，一个形状较好的压缩器（横截面是圆形），C_D 的值为 0.95～0.99。对于层流，这个值小得多，因为层流的能量校正值较大。流体借助分散区，恢复到其初始速率，形成了称为 Venturi 流量计的流速测定装置。

Venturi 流量计如图 1（a）所示。收缩的圆锥体导向狭窄的横截面，称为喉口，流量计这部位两侧的压力变化可测量，代入方程（7）得到流速。置换系数值会提前给出。设计分散区或扩散器的目的是诱导流体逐渐回到初始速度。这样在扩散器中形成的涡流最小，并且可回收大部分增加的动能作为压力能。在交汇和分开部分由于摩擦引起的接头的永久性损失是很小的。因此，测量器是有效的。

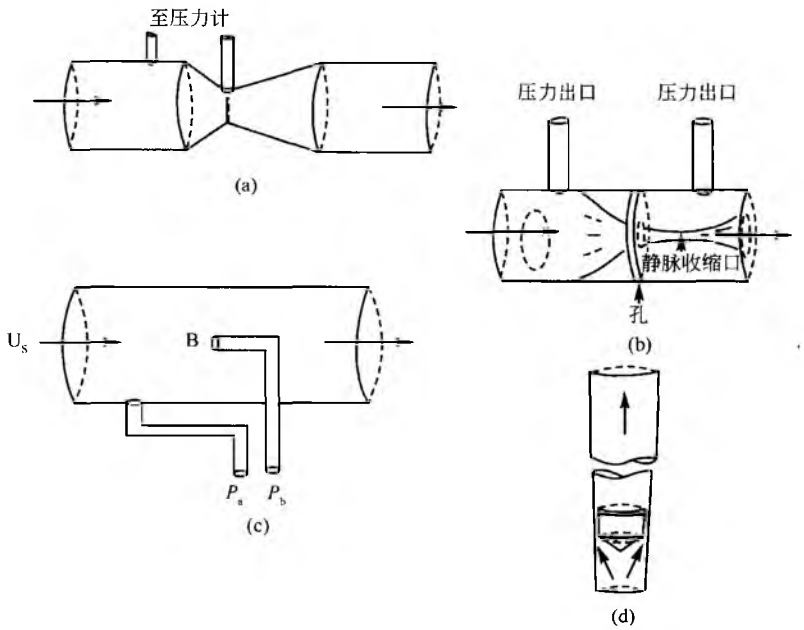


图 1　(a) Venturi 流量计；(b) 小孔流量计；(c) Pitot 管；(d) 转子流量计

当能量损失最小化的考虑不是很重要时，逐渐回到初始速度可以放弃，对于效能损失的补偿可以用比 Venturi 流量计更简单、价格更便宜、适应性更强的装置。小孔流量计符合上述的要求，简单地包括一个带着小孔的金属板。图 1（b）为流体流过流量计的示意图，流体通过小孔之后汇聚通过面积很小的一个横截面，此横截面称为缩流断面。在这横截面上产生下游取压。流速由方程（7）给出，a_2 是静脉收缩口的喷射面积，喷射面积测量不便。它与孔口面积相关，而孔口面积 a_0 通过收缩系数 C_c 与 a_2 和 a_0 的关系式 $C_c = a_2/a_0$ 可准确测量得到。

收缩系数、分泄点间的摩擦损失和动能校正都包含于置换系数中。流速由方程（8）给出：

$$Q = C_D a_0 \sqrt{\frac{2(P_1 - P_2)}{\rho(1 - a_0^2/a_1^2)}} \tag{8}$$

与管横截面积相比，如果孔口很小，则 $1-(a_0^2/a_1^2)$ 项接近 1。对于 $P_1 - P_2 = \Delta h\rho g$，$\Delta h$ 为小孔引起的压差，方程（8）可化简为方程（9）：

$$Q = C_D a_0 (\Delta h\rho g)^{1/2} \tag{9}$$

小孔流速计的 C_D 值大约为 0.6，随着结构、a_0/a_1 比和计量器中的流动条件的不同而不同。由于其复杂性，不能经计算得到。

通过孔口之后，迟滞时的紊流引起大部分额外动能转化为热能而被消耗掉。因此压差的永久损失较高，随着 a_0/a_1 比降低增加，最终在流量计中产生压差。

Bernoulli 定理可以用来测定浸入到流体中的物体的上游区由于流体阻滞引起的压力变化。这条原理应用于 Pitot 管，如图 1（c）所示。流体速度从平行于管子的细流的速率 u_a 开始减少至停滞点 B 处为 0，利用图 1（c）方法测定此点的压力为 P_b。原始压力 P_a 利用管壁分支点连接到一个测压计进行测量。当 B 点的速度为 0，可得方程（10）

$$\frac{u_a^2}{2} = \frac{P_b - P_a}{\rho} \tag{10}$$

u_2 可通过计算得出。由于只测定了一个局部流速，在这一部位的流速的变化可以通过改变管子的位置来进行研究。如果要测量管内的流速，必须使用这个方法。平均流速由测量离管壁不同距离的点的流速得出。这个推导和得到的低压差证明 Pitot 管比 Venturi 管或小孔流速计的精确度都要低。因此，当管子与管径相比很小时，产生的压差损失可以忽略。

转子流量计（面积可变的流量计），如图 1（d）所示，较为常用，通过一个小的浮标能直接读出流速。该浮标置于垂直标刻度的玻璃管中，液体流过该玻璃管。玻璃管下端逐渐收缩，因此，浮标和管壁之间的环随着浮标位置的变化而变化。通过环的流体加速时则在通过浮标的位置处产生了压力差，同时一股向上的力作用于浮标。通过浮标的缓慢旋转，在平衡位置时，向上的力可以和作用在浮标上的重力达到平衡。如果平衡被增加的流速所打破，浮标向上运动到达一个环面积较大的位置，此时产生的压差和重力相平衡。为了精确测量，转子流量计是利用要测量的流体来校正的，因此其应用仅限于该种流体。

3. 层流和湍流

将染料置于管子的中轴线上，可以测得流体的性质。在低速条件下，染料形成一条连贯的线，且线的粗细顺着流向变化不大。然而，随着流速的增加，染料线开始波动变得不连贯，且发生染料线与流体的运动方向反复交叉的现象。最后，在高速时，没有单条的染料线存在，染料与流体瞬间就混合在一起。在该试验中，流体的流动从层流到湍流的变化存在一个临界速度。通常来说，无论是大小还是流动方向，层流时的瞬时速度通常都与平均速度相同。流体在湍流状态时，秩序不复存在，在流体主要的平稳运动中加入了不规则运动。在任一瞬间，指定位置的流体速度的大小和方向都在变化，同时存在与净流向平行或垂直的成分。在一段时间内，这些波动产生流体在流动方向的净流速。

在湍流内，流体非常快的波动速度使流体内产生较高的速度梯度，相应地产生了大的切应力，为了克服此切应力，机械能消耗并以热的形式消失。而对于层流，能量消耗要小得多。

湍流中从流体的一个部分将动能、热量或物质传递到流体的另一个部分的机制在层流中是不存在的。动量传递的媒介是由速度变化引起的切应力，即黏度。同理，热能和物质只能以分子形式穿过层流线，热通过传导，物质通过扩散。对于流速相对较慢的湍流，这些机制存在，但不是很重要。然而其速度、温度和浓度梯度要比湍流中的高得多。

4. 管中流体的流动

很多制药学工艺涉及流体传递，因此管内流体流动的研究就显得十分重要。这项研究允许评估简单的管子中摩擦引起的压力损失，并且估计管子粗糙程度、管径的变化、弯曲度、出口和入口的附加效应。当由于系统摩擦而致的总压力下降已知时，可以得到相等的压差，驱动流体流过系统的动力需求可由方程（9）算得。

管中的线性流动

在简单管子中线性流体的数学分析可以用 Poiseuille 法则表示，其中一种形式为方程（11）：

$$Q = \frac{\Delta P \pi d^4}{128 \eta l} \tag{11}$$

式中：Q 是排出流量；ΔP 是管子两端的压力差；d 和 l 分别是管子的直径和长度；η 是流体的黏度。

流体在管内的流动是线性流或湍流时，管壁存在一极薄的静流层。此处的速度是 0，至管子的中轴线，速度增加到最大。线性流的速度分布如图 1（a）所示。速度梯度 du/dr 从管壁处的最大值减至中轴线的最小值 0。当流体通过管子时，切应速度等于速度梯度，方程（1）描述了切应力的相同变化。

为了推导 Poiseuille 定律，必须首先确立速度分布的形式。在半径为 R 的管中半径 r 内流动的流体，流过长度 l 的压力降是 ΔP；因此，推动这一个区段的压力为 $\Delta P \pi r^2$。如果流动达到稳态，这个力只能被作用在该区段的管壁部分的黏力所平衡。其表达式为

$$\tau = \frac{\Delta P r}{2l}$$

因此得

$$-\frac{du}{dr} = \frac{\Delta P r}{2 \eta l}$$

因为当 r 增加时，u 减少，所以速度梯度是负值。如果 $r=R$，则 $u=0$。积分为

$$\int_0^u du = \frac{\Delta P}{2 \eta l} \int_0^r r dr$$

因此，方程可写成：

$$u = \frac{\Delta P}{2 \eta l} \left(\frac{R^2 - r^2}{2} \right) \tag{12}$$

式（10）表明，管截面的速度分布是抛物面的。对于这样的分布，最大速度是平均速度的两倍。

通过 r 和 $r+dr$ 的环状部分的流速是

$$Q = 2 \pi r dr r$$

对于方程（12），代替 u 得：

$$Q = \frac{\Delta P \pi}{2 \eta l} (R^2 r - r^2) r dr$$

总的流速是 $r=R$ 和 $r=0$ 范围内的积分：

$$Q = \frac{\Delta P \pi}{2 \eta l} \int_0^R (R^2 r - r^3) dr = \frac{\Delta P \pi}{2 \eta l} \cdot R^2 \left[\frac{\frac{r^2}{2} - r^4}{4} \right]_0^R$$

因此，方程（11）有效：

$$Q = \frac{\Delta P \pi R^4}{8 \eta l} = \frac{\Delta P \pi d^4}{128 \eta l}$$

式中：d 为管子的直径。

当 $Q = u_{mean} \pi (d^2/4)$ 时，置换和重排得到方程（13）：

$$\Delta P = \frac{32 u_{mean} \eta l}{d^2} \tag{13}$$

5. 雷诺数 *Re* 的重要性

雷诺数描述惯性和黏度或摩擦力的比，雷诺数越大，惯性作用的相对作用就越大。当雷诺数 Re 很低时，黏度影响占优势，惯性力的影响可以忽略。

6. 管内由于摩擦引起的压差的计算

如果密度为 ρ、黏度为 η 的流体通过直径为 d 的管子的流速为 Q，从流速和管子的面积可以计算平均速度 u，从而算出雷诺数 Re。如果管的粗糙因子已知，就能够从图 2 读出 $R/\rho u^2$ 的值，管壁处的剪切应力能够计算出来。反抗物体运动产生的总摩擦力是 R 和管表面积 πdl 的乘积，l 是管子的长度。如果通过管的未知的压差是 ΔP，那么，通过管的推进力是 $\Delta P \cdot \pi d^2/4$。压力和摩擦力相等：

$$\Delta P = \frac{\pi d^2}{4} = R\pi dl$$

因此，可得方程（14）：

$$\Delta P = \frac{4Rl^2}{d} \tag{14}$$

除以 ρg 得到称为摩擦压差的压力损失。

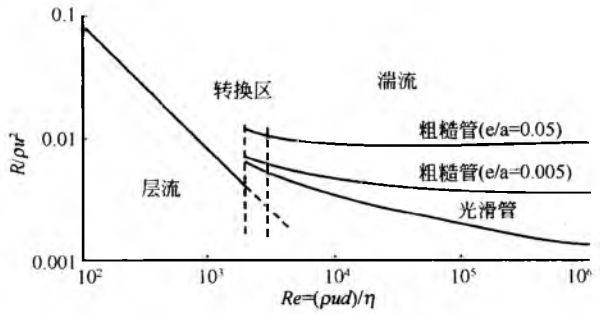


图 2 管子摩擦图 $R/\rho u^2$ 与 Re 的关系

7. 非圆形横截面的流体流动

通过引入相当于圆形管直径的量，上述理论可以用于非圆形管内的湍流。该量称为平均水力直径 d_m，等于截面积除以浸湿的周长乘以 4。例如，对于边长为 b 的正方形水道，有

$$d_m = \frac{4b^2}{4b} = b$$

对于外径为 r_1，内径为 r_2 的环来说，有

$$\frac{4(\pi r_1^2 - \pi r_2^2)}{2\pi r_1 + 2\pi r_2} = 2(r_1 - r_2)$$

这个简单的修正不能应用于非圆形管内的层流。

8. 管接头处的摩擦力损失

除了在直管壁附近的摩擦力损失以外，在现实系统中采用的不同的接头和阀门处都会产生摩擦力损失。通常，这些损失是由于管的几何形状的变化引起流体流速大小和流动方向的突然改变产生的。可以分成扩大或收缩引起的损失、入口或出口的损失和管子的弯曲引起的损失等几类。损失能够方便地以提供相同阻力的直管长度表示，通常是各种管子的直径形式。例如，一个直角弯的摩擦力损失与长度等于直径 40 的直管产生的摩擦损失相当。所有接头配件和阀门的相等长度之和都算到实际的管长中。

9. 流体中物体的运动

黏度和惯性决定了流体中的物体运动相对于流体运动的形状和曳力。雷诺数能表示其比值，通常作为预测流动行为的参数。曳力和其控制变量的关系与流体在管中的流动方式相类似。考虑一个球体相对于流体进行运动，球体的投影面积通常为 $\pi d^2/4$，d 是球体的直径。作用在单位投影面积 R' 上的曳力由流体速度 u、黏度 η、密度 ρ 和球的直径 d 决定。分析得到方程（15）。

$$\frac{R}{\rho u^2} = f(Re) = f\left(\frac{ud\rho}{\eta}\right) \tag{15}$$

该雷诺数 Re 使用球的直径作为长度因次。

除了分析非常小的 Re 值，该函数形式通过实验确立。结果用图 3 的对数坐标表示。当 Re 小于约 0.2 时，作用在球体上的曳力只有黏力。方程（15）可变为

$$\frac{R}{\rho u^2} = \frac{12}{Re}$$

因此，

$$\text{总的曳力} = R\frac{\pi d^2}{4} = \rho u^2 \frac{12\pi d^2}{Re4} = 3\pi\eta du \tag{16}$$

这是 Stoke 定律的标准形式。

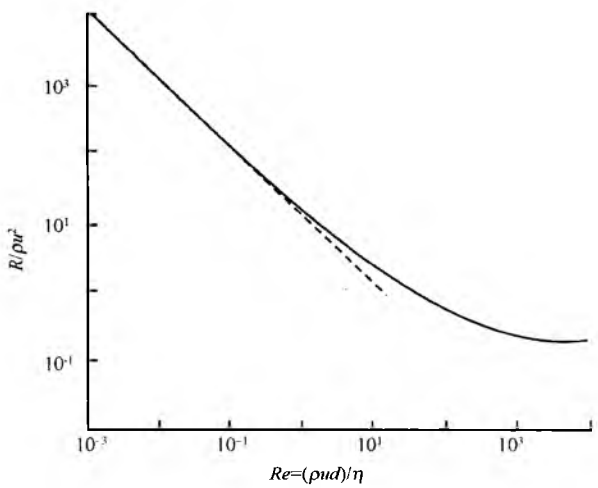


图 3 光滑球体的 $R/\rho u^2$ 与 Re' 的关系

当 Re' 很大时，试验曲线逐渐偏离该关系式，最后与 Re 无关，给出 $R/\rho u^2$ 值等于 0.22。当 Re 增加时，形状阻力增加，最后变成唯一阻碍运动的力。

对于非圆形颗粒，分析采用体积相当的球体直径，必须加入校正因子，该因子主要取决于物体的形状和它在流体中的方向。

这种分析的一个重要应用就是估计颗粒在流体中的沉降速度。在重力的作用下，颗粒加速运动直到重力 mg 与反向作用力平衡。然后物体以一个恒定的速率 u 沉降。重力和向上的拉力相等，用方程（17）表示：

$$mg = \frac{\pi}{6}d^3(\rho_s - \rho)g = R\frac{\pi d^2}{4} \tag{17}$$

式中：ρ 为颗粒的密度。

Y

在线性流中球体的沉降，(Re 0.2)，$R'=\rho\mu^2$ (12/Re)。代入方程（17）得方程（18）：

$$u=\frac{d^2(\rho_s-\rho)g}{18\eta} \tag{18}$$

这个表达式更简单地符合式 $mg-3\pi d\eta\mu$。

10. 流体通过填充床的流动

流体流过一个可穿透的固体床的分析广泛用于过滤、渗漉和几个其他的工艺。首先假设床的空隙相当于大量的不连续的平行的毛细管。如果流动是线性的，对于一个单独的毛细管，流速 Q 用方程（11）表示：

$$Q=\frac{\Delta P\pi d^4}{128\eta l} \tag{11}$$

式中：l 为毛细管的长度；d 为其直径；ΔP 为通过毛细管后压力的变化；η 为流体的黏度。毛细管长度超过床的深度值，主要取决于床的曲折程度。然而，床的深度 L 与毛细管的长度 l 成正比，所以

$$Q=\frac{\Delta Pd^4}{k\eta L}$$

这里 k 是一个床的特定常数，如果床的面积是 A，单位面积中含有 n 个毛细管，那么总流速表示为

$$Q=\frac{\Delta Pd^4nA}{k\eta L}$$

式中：n 和 d 都是未知的，但是对于给定的床，它们的值是确定的，用方程（19）表示：

$$Q=KA\frac{\Delta P}{\eta L} \tag{19}$$

其中，$K=d^4n/k$，该常数为渗透系数，而其倒数 $1/K$ 为特定的抵抗力。该值与床的性质有关。

这个不连续的毛细管假说妨碍了对决定渗透系数的因素的正确评价。通道不是不连续的，而是随机的相互连接。然而，流体通过通道的阻力一定与通道的数量和大小有关。这些可用无填料的比例，即孔隙率以及无填料比例的分布来表示。这可用一个特定的例子阐述：对于用相同的材料做成的床，与孔隙率为 25%相比，水更容易通过孔隙率为 40%的床。同样，与用细颗粒填充的床相比，水能较快地通过用粗颗粒填充的相同孔隙率的床。后者的效应可用床可供流体流动的表面积表示，这个性质与填充床的颗粒的大小成反比。随着孔隙的增加，和床总表面积的下降，渗透率增加，这些因素可以综合为一个等价通道的水力直径 d'，定义为

d'=孔隙的体积/床的总表面积

孔隙的体积是孔隙率，而固体的体积为（1−ε）。如果比表面积，即单位体积固体的表面积为 S_0，那么单位体积床的总表面积则为 S_0（1−ε）。因此，得到方程（20）：

$$d'=\frac{\varepsilon}{S_0(1-\varepsilon)} \tag{20}$$

在线性流的条件下，流体通过等价通道的速率按照 Poiseuille方程给出。

在这个通道中，速率 u' 为体积流度与通道的表面积 $k'd'^2$ 的比值，综合这些常数：

$$u=\frac{Q}{kd^2}=\frac{\Delta Pd^2}{k\eta L}$$

当床的面积、固体的面积和孔隙的面积取平均值时，u 值偏低，这些速率是相关的，表示为

$$u=u\varepsilon$$

因此

$$\frac{u}{\varepsilon}=\frac{\Delta Pd^2}{k\eta L}$$

代入方程（20）的 d' 得到

$$\frac{u}{\varepsilon}=\frac{\Delta P}{k\eta L}\frac{\varepsilon^2}{(1-\varepsilon)^2S_0^2}$$

和方程（21）：

$$u=\frac{\Delta P}{k\eta L}\frac{\varepsilon^3}{(1-\varepsilon)^2S_0^2} \tag{21}$$

这个方程称为 Kozeny 方程，是以其发明者的名字命名的，常数 k 为 5±0.5。由于 $Q=uA$（A 为床的表面积），所以方程（21）可转换为方程（22）：

$$u=\frac{\Delta PA}{\eta L}\frac{\varepsilon^3}{5(1-\varepsilon)^2S_0^2} \tag{22}$$

这个分析表明渗透性是孔隙率和表面积的复合函数，后者取决于颗粒的粒径分布和形状。在方程（20）中出现了比表面积，从而提供了一种比表面积的测量方法，并为采用流体渗透方法分析粒子大小提供了依据。这个方程也可用于研究过滤。

11. 泵

驱动流体通过系统对抗的压差所需动力。通常由泵来提供。由于在不同的过程中，传递流体的数量、对抗的阻力及流体本身的性质有很大差异，因此就要求很多不同的泵来满足这些不同的需求。一般来说，泵能被分为容积泵（可以是往复式或旋转式）和叶轮泵。容积泵每往复一次或旋转一周，排出固定体积的液体，而叶轮泵将高动能传递给液体，而后又转换为压力能。排出液体的体积与阻力有关。

泵气体和液体的设备基本上是相同的，输送气体的机器通常称为压缩机或鼓风机。压缩机排出较高压力的气体，而鼓风机排出的气体压力相对较低。由于气体的密度和黏度较小，所以产生较高的速率，而且为了减少泄漏，运动部件间的间隙要更小。

热传递

工艺容器中的热传递在本书的前面章节中描述过[1]。下面将更详尽地综述在药学中作为一个单元操作的热传递。热传递仅能从高温区到低温区。要理解热传递，需要研究这个过程的机制和速率。

热通过三种机制传递：传导、对流和辐射。热传递通常不是仅一种机制引起的。

传导是一种最容易理解的热传递机制，也是固体传递热的主要方式。热量的流动依赖于分子间振动能的传递，对于金属是自由电子的运动。辐射在固体中是很罕见的，但在玻璃和塑料中存在。按定义，对流在这些条件下是不可能发生的。在液体中对流通常比传导作用强，但在流体的边界，传导作用更显重要。

热量从一个区域到另一个区域是通过液体的流动和对流现象。对于自然的对流过程，运动主要是由于液体密度的差异而导致液体浮力的变化引起的，而密度的不同是由温度的不同引起的。在强制对流过程中，运动主要是由外部的装置如泵引起的。

所有在绝对零度以上的物体都以电磁波的形式向周围辐射热量。这种辐射由物质传送、反射或者吸收。吸收后的部分转化为热量。在非常高的或非常低的温度条件下，其他的热传递的形式受到抑制时，辐射是非常重要的。虽然在某些情况下热量损失等于自然对流导致的损失，但是从制药工艺的角度来看，其机制并不重要，只需要简单的考虑。

1. 通过外壁进行热传递

热传递通过外壁传导遵循傅里叶方程的基本关系［(方程（23)］，表明热流速率 Q 与温度梯度 $\mathrm{d}T/\mathrm{d}x$ 和热流面积 A 成正比。

$$Q = -kA\frac{\mathrm{d}T}{\mathrm{d}x} \tag{23}$$

随着距离 x 增加，温度 T 下降。因此在 x 方向上，温度梯度 $\mathrm{d}T/\mathrm{d}x$ 为负值。比例常数 k 是热传导率，它的数值与物体的材料和温度有关。

金属有高的传导率，但是其值变化范围非常宽。与金属相比，非金属通常传导率较低。对于这类多孔性的材料，总传导率介于均匀固体和渗透入结构中的气体之间。传导率较低的材料广泛用作隔热材料。在非金属中，碳是一个例外。它具有相对较高的热传导率和化学惰性，广泛用于热交换器。

稳定的、无方向的热传递通过一个厚度为 x、面积为 A 的平面墙，如图 4（a）所示。假设热传导率不随温度而改变，温度梯度是线性的，并等于（T_1-T_2）/x，式中，T_1 是热面的温度，T_2 是凉面的温度。那么，方程（23）转换成方程（24）。

$$Q = kA\frac{T_1-T_2}{x} \tag{24}$$

经重排得方程（25）：

$$Q = A\frac{T_1-T_2}{x/k} \tag{25}$$

其中，x/k 为传热阻力，所以对于一个给定热流，如果壁的传热阻力较高，将有非常大的温度下降。

相反，如果传热阻力增加，给定温差引起的热流动将减小。这是因滞后引起隔热的原理，用如图 4（b）所示的复合墙表示。如果存在稳态的热传递，两种材料的热传递速率是相同的。因此，

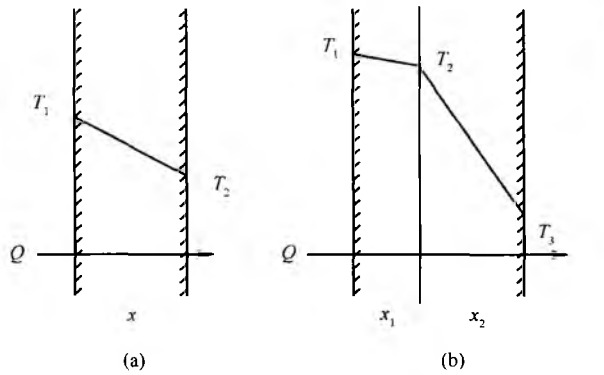


图 4　热传导通过平坦的墙[(a)] 和复合的墙[(b)]

$$Q = \frac{k_1A(T_1-T_2)}{x_1} = \frac{k_2A(T_2-T_3)}{x_2}$$

主要的温度下降发生在 x_2 距离，表明这种材料提供主要的传热阻力（严重滞后时，薄金属壁、温度下降和金属的传热阻力非常小，可以忽略）。重排该方程，并忽略接头温度的变化，得方程（26）。

$$Q = A\frac{(T_1-T_2)}{(x_1/k_1+x_2/k_2)} \tag{26}$$

此方程能用于任何数量的层面。

2. 在管子中的传热

管子通常是热传递的屏障。此时热传递面积的改变使得传导变得复杂。如果保留方程（23），A 值必定来自管的长度 l 和它的内外径 r_1 和 r_2。如果管壁薄且 r_1/r_2 小于 1.5，那么热传递面积基于两个半径的算术平均值。方程（23）变为方程（27）。

$$Q = k_2\pi\frac{r_2+r_1}{2}l\frac{T_1-T_2}{r_2-r_1} \tag{27}$$

这个方程对于厚壁管不准确，此时热传递面积基于平均半径 r_m 的对数值。这时热传递用方程（28）表示：

$$Q = k_2\pi r_m\frac{T_1-T_2}{r_2-r_1} \tag{28}$$

式中：

$$r_m = \frac{r_2-r_1}{\log\frac{r_2}{r_1}}$$

3. 在固液界面间的热交换

传导和对流促使热从液体向界面传导。考察被平板分隔成两部分的液体的温度分布，如果液体是紊流的话，温度梯度限于靠近壁的狭窄区域。在这个区域外为紊流混合，其机制前面已有阐述，紊流能够有效地进行热传递。温度梯度迅速被破坏，使得 T_1 和 T_2 相等。在这个区域内，存在一个很薄的子层，在这层中热传递仅仅是由传导引起的，给定热流的温度梯度很高。在这个薄层外面，涡流有利于通过从紊流到子层边缘转移液体进行热传递，在此边缘损失或获得热能，并且朝反方向做相应的运动。与子层的梯

Y

度相比，该区域的温度梯度较小，且热传递是由传导和对流共同作用的。

热流的主要阻力是薄的子层，因此它的厚度非常关键，决定了热量从液体到边界的传递速率。厚度取决于液体的性质、流动条件和表面性质。例如，随着液体流速的增加，其子层厚度降低，从而降低了热量流动的阻力。

为了评价界面的热传递速率，假设存在一个仅靠传导来传递热量的薄膜。这个假想的薄膜同靠近壁的紊流和薄层区域具有相同的传热阻力。如果该膜的加热面厚度为 x_1，那么壁的热传递方程将变成：

$$Q = kA\frac{T_1 - T_{1壁}}{x_1}$$

式中：k 是液体传热系数。冷壁面的热传递方程与这个方程类似，决定该层厚度的因素与控制薄子层的相同。一般该层的厚度是未知的，上面的方程可写成方程（29）的形式：

$$Q = h_1 A(T_1 - T_{1壁}) \tag{29}$$

式中：h_1 是薄膜的传热系数，与 k/x_1 对应，为 Btu/ft² · h · ℉。对于传导和对流共同作用的界面，这是一个常用的热流动数学表达式。这个系数的近似估算将在以后讨论。

从壁到较冷流体的热传递薄膜系数为 h_2。

$$T_1 - T_{1壁} = \frac{Q}{h_1 A} \qquad T_{1壁} - T_{2壁} = \frac{Qx_w}{h_w A}$$

式中：k_w 是壁的传热系数，且

$$T_{2壁} - T_2 = \frac{Q}{h_2 A}$$

这些方程经过添加和重排得到方程（30）：

$$Q = \frac{A}{(1/h_1 + x_w/k_w + 1/h_2)}(T_1 - T_2) \tag{30}$$

其中 $\frac{A}{(1/h_1 + x_w/k_w + 1/h_2)}$ 叫做总传热系数 U。那么热传递速率的表达式就变为方程（31）：

$$Q = UA\Delta T \tag{31}$$

或

$$\frac{ql}{\Delta Tk} = 常数\left(\frac{l^3 \Delta Tag\rho^2}{\eta^2}\right)\left(\frac{C_p\eta}{k}\right)^q \tag{32}$$

自由对流的热传递可表示为下面三个无因次群之间的关系：$C_p\eta/K$ 为普朗特数；$l^3\Delta Tag\rho^2/\eta^2$ 为 Grashof 数；$ql/\Delta T$ 为努珊数，也可写成 hl/k。

特定系统的这些群之间的关系是由实验得到的。

C_p、η、K 和 ρ 是液体的性质，与自身的温度有关。在建立这样的关系时，必须选定测定这些性质时的温度。这通常是液体的温度或者是主体温度和表面温度的平均值。

指数 r 和 q 均为是由实验测得的，在线性流时 r 和 q 均为 0.25，在紊流时 r 和 q 均为 0.33。r 和 q 随着结构而变。例如，从大的水平管到气体和液体的自由对流热传递可用方程（33）表示：

$$\frac{qd}{k\Delta T} = 0.47\left(\frac{d^3\Delta Tag\rho^2}{\eta^2}\right)\left(\frac{C_p\eta}{k}\right)^{0.25} \tag{33}$$

上面这个方程中的线性因次为管的直径 d，在一定温度下测定液体的性质，此时的温度为液体和壁的温度的平均值。

在强制对流中，单位面积单位时间的热传递量 q，取决于描述液体表面积的线性因次量 l、液体表面和液体的温差 ΔT、黏度 η、密度 ρ、速率 u、传导系数 k 和比热 C_p。因次分析得到方程（34）：

$$\frac{ql}{Tk} = 常数\left(\frac{C_p\eta}{k}\right)^x\left(\frac{ul\rho}{\eta}\right)^y \tag{34}$$

式中：ql/kT 为努珊数（Nu）；$C_p\eta/K$ 为普朗特数（Pr）；$ul\rho/\eta$ 为雷诺数（Re），这个参数之前就讨论过；指数 x、y 为实验常数。若管中为紊流，低黏度流体的关系式表示为方程（35）：

$$Nu = 0.023Pr^xRe^{0.8} \tag{35}$$

式中：x 值加热时为 0.4；冷却时为 0.3。用管的直径作为线性因次计算 Nu 和 Re，在液体温度下测量液体的物理性质。这种关系表明，在一个给定的系统中，薄膜系数随液体速率的 0.8 次方变化。如果流速增加 1 倍，那么系数将增加 1.7 倍。

4. 沸腾液体中的热传递

在很多操作中，热传递是在沸腾的液体中进行的，如蒸馏和蒸发。这时，通过热传导和对流方式进行的热传递，由于在加热界面上的相转变而进一步复杂化。当用加热器与液体池接触至沸腾时，此过程就为池沸。液体的运动只是由加热引起的。在其他系统中，液体的沸腾可通过加热器、强制循环沸腾过程驱使。

4.1 池沸

如果水平加热面与沸腾液体接触，随着表面层和液体间的温差增加会导致一系列结果。

当 ΔT 较小时，在靠近表面的区域内，过热程度较低，气泡形成较慢（如果存在的话）。液体的沸腾程度小，此时的热传递可以用自然对流的方程（31）估算。

蒸气形成变得较剧烈，气泡链上升，最后合并。这种运动增加了液体的循环。这个状态叫做泡核沸腾，这是一种很重要的动态过程。当流动达到峰值时，传热系数最大。此时的 ΔT 为临界温度差，对于水，该值为 40～50 ℉（4～10℃），对于有机溶液，该值稍高。超过临界温度时，蒸气形成较快，散发较慢，导致大部分加热的表面由一层蒸气薄膜覆盖。这是一个从有核沸腾到薄膜沸腾的转变。当这个过程完成后，蒸气完全覆盖液体的表面，薄膜沸腾形成，这时热流量又再次增加。

传热系数小会产生不希望的薄膜沸腾，设备的设计和操作温差均小于临界温差。如果使用恒温热源如蒸气或热液体，超过临界温差只会导致热流量和效率下降。然而，如果使用一个恒定的输入热源，如电加热，随着进入过渡区域的热流量的降低，将会导致加热元件的突然甚至是破坏性的温度增加，这种情况被称为暴沸。

沸腾的热交换系数与液体的物理性质和加热表面的性质

有关。对于有核沸腾，在润湿、粗糙和污浊三因素中，后者对气泡的生成、长大和扩散影响最大。目前，从系统的物理性质方面还找不到可靠的方法评估热交换的沸腾系数。

4.2 垂直管内的沸腾

在垂直管内部沸腾液体的热传递在蒸发器中是很常见的。在一个直径合适的长管中放入少量的液体，加热，即建立了沸腾模型，如图 5 所示。液体量较少时，沸腾可能被上部抑制，如图 5（a）所示。在管的上端产生气泡，上升和合并，如图 5（b）所示。由于气泡凝结，形成弹状流（slug），如图 5（c）和与（d）所示。这个弹状流最终破裂，如图 5（e）所示。液体和气体向上移动的速率逐渐增加，限制了逸出。排水导致相的分离，由于高速蒸气核向上拉动液层，从而形成了一个环形的薄膜，如图 5（f）所示。在长形管中，热传递主要发生在强制对流或泡核沸腾的区域。在壁和薄膜间的温差较低时，静静地发生以强制对流方式的热传递。在升膜蒸发器中，这是一个正常的现象，可以通过方程（42）的关系，计算出热流量。在温差高时，薄膜里发生有核沸腾，剧烈运动导致传热系数增加。

4.3 强制循环中的沸腾

在许多系统中，运动是由外力造成的，而不是由沸腾引起的。例如，在批生产中，搅拌瓶中的沸腾是很常见的。沸腾时的传热系数与液体性质、表面性质和搅拌有关。这时的系数比池沸的系数稍高。在管的内部，强制循环沸腾的模式与以前描述的相似，但是系数较高，因为所得到的速率较高。

5. 冷凝蒸气的热传递

当饱和蒸气与冷表面接触时，热量传递到表面，冷凝成液体。蒸气可以由单一或混合物质组成，其中的某些组分可能是非冷凝的。

这个过程可以用以下步骤描述：蒸气扩散到发生冷凝的界面。在大多数情况下，冷凝物在冷的表面形成一连续层，在重力的作用下流动，这就是薄膜冷凝。潜热通过传导由薄膜传递到表面。虽然薄膜对热量传递有相当大的阻力，但是薄膜系数通常很高。

5.1 液滴冷凝

在某些表面条件下，冷凝物并不形成连续的薄膜。形成的液滴生长、合并，最后从表面逸出。由于部分表面总是直接暴露于蒸气中，所以不存在薄膜阻力，得到的传热系数也要比在薄膜冷凝中的大 10 倍左右。这个过程被称为液滴冷凝。尽管液滴冷凝过程非常令人期待，但是其发生取决于表面的润湿性，而且还难以预测，所以不能作为设计的基础。

5.2 纯蒸气的冷凝

对于薄膜冷凝，对倾斜表面上的层流和因冷凝导致的

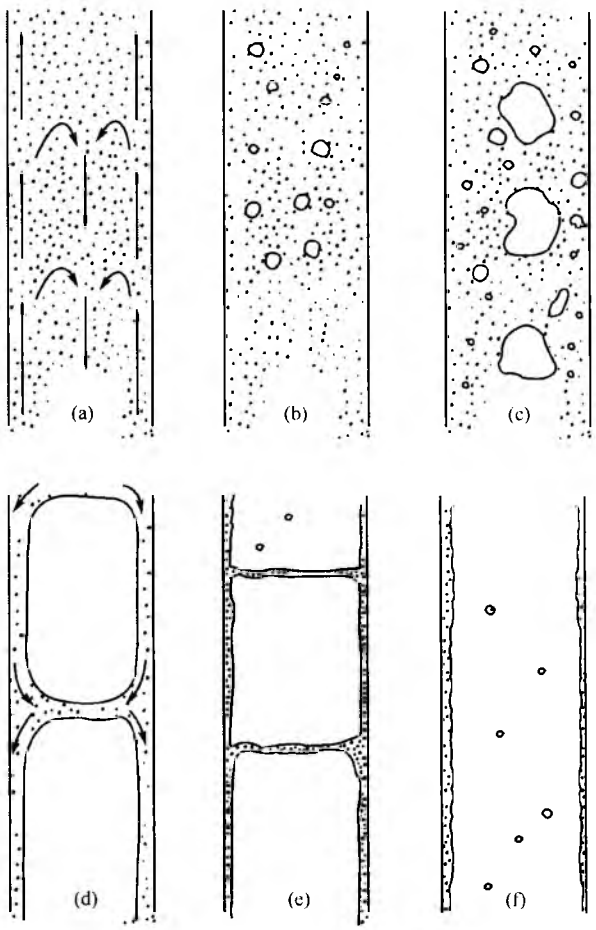


图 5 在狭窄的垂直管中的沸腾。(a) 上部对沸腾的抑制，图示为自然对流；(b) 形成水泡；(c) 水泡聚集形成弹状流；(d) 形成完全的活塞流；(e) 在高蒸气速率下，弹状流破裂；(f) 环形流体上升膜

薄膜厚度的不断增加进行理论分析，得到用来表示平均传导系数 h_m 的方程（36）：

$$h_m = \text{常数}\left(\frac{\rho^2 k^3 \lambda g}{\Delta T \eta x}\right)^{0.25} \tag{36}$$

式中：λ 表示蒸发潜热；ρ、k 和 η 分别表示密度、热传导率和液体黏度；ΔT 表示表面和蒸气间的温度差。实验测定的系数验证了方程（36），但由于一些因素对薄膜的影响，实际值要比理论计算的系数值要高一些。随着冷凝速率的增加，冷凝层厚度增加，薄膜系数降低。但是在较长的垂直管中，可以达到一个点，在该点冷凝层中的流动变得混乱。这时系数重新上升，方程（36）不再适用。如果高蒸气流速能够在薄膜中引起褶皱，薄膜系数也可能升高。

5.3 混合蒸气的冷凝

如果将可冷凝气体和不可冷凝气体的混合物在某--表面上冷却至露点以下，可冷凝气体开始冷凝，使得邻近液层中不可冷凝气体增多，因此增加了额外的传热阻力。可冷凝部分必须扩散通过该层到达冷凝膜层，传热系数通常

要比相应的纯蒸气的系数低得多。例如：纯蒸气中混入0.5%的空气，水蒸气冷凝中的热传导就会下降50%之多。

6. 辐射热传递

对于辐射到物体上的射线，一部分（a）被吸收，一部分（b）被反射掉，一部分（t）透过人体，分别称为吸收率、反射率、透射率。绝大部分工业固体是不透明的，透射率为零，则有：

$$a + r = 1 \tag{37}$$

反射率和吸收率主要取决于表面性质，极端的例子是只吸收不反射的物体，称为黑体。

辐射交换

辐射交换基于两个法则。第一个法则是Kirchoff定律，即在热平衡条件下，所有物体的发射力与吸收率的比值都是一样的。一个物体的发射力 E，表示单位时间单位面积发射出的能量。如果 A 物体的面积是 A_1，发射率是 E_1，那么 A 物体单位时间发射的能量为 A_1E_1。如果辐射到该物体单位面积的能量为 E_b，则该物体吸收能量的速率为 $E_ba_1A_1$，a_1 表示吸收率。热平衡时，$E_ba_1A_1 = E_1A_1$。对于在相同环境中的另一物体，$E_ba_1A_2 = E_2A_2$，由此得到方程（38）：

$$E_b = \frac{E_1}{a_1} = \frac{E_2}{a_2} \tag{38}$$

对于一个黑体，$a=1$。因此，发射力为 E_b。黑体是个完美的发射源，通常用于其他表面的对比标准。在相同温度下，表面发射力 E 比上黑体的发射力 E_b 即为表面发射率，如式（39）所式：

$$e = \frac{E}{E_b} \tag{39}$$

发射率在数值上等于吸收率。由于发射力与波长有关，对于许多物质的发射率要注明波长。但是发射力是黑体辐射的恒定部分，也就是说发射力是一个常数。这样的物质被称为灰体。

第二个基本法则是Stefan-Boltzmann定律，即黑体的能量发射与绝对温度 T 的四次方成正比，如方程（40）所示：

$$E = \sigma T^4 \tag{40}$$

式中：E 为总的发射力；σ 为Stefan-Boltzmann常数。单位时间内面积为 A 的黑体发射出的热量 Q 可以用公式

$$Q = \sigma A T^4$$

来表示，这个公式非常精确。如果不是完美黑体，发射出的热量 Q 用公式

$$Q = \sigma e A T^4 \tag{41}$$

来表示，e 为发射率。

一个物体得到或失去的净能量可以用这些定律来估算。最简单的例子是一个灰体处在一个黑色环境中。在此环境中，物体发射出的能量不能反射回来，近似于物体将能量发射至大气中的情形。如果一个物体的绝对温度为 T_1，热量失去的速率为 $\sigma e A T_1^4$［方程（42）］，其中 A 为物体的面积，e 为发射率。当环境温度为 T_2 时，辐射能量与 σT_2^4 成正比，如果面积为 A，吸收率为 a，则热量 Q 为 $\sigma a A T_2^4$，如果吸收率与发射率相等，则有：

$$\text{净能量传导率} = \sigma e A\ (T_1^4 - T_2^4) \tag{42}$$

如果表面发射出的能量被另一个表面反射回一部分，能量交换的计算就会非常复杂。对不同表面构造的计算公式采用如下的一般形式：

$$Q = F_1 F_2 \sigma A (T_A^4 - T_B^4)$$

其中 F_1 和 F_2 分别为在温度 T_A 和 T_B 时，由表面构造和发射率决定的因子。

质量传递

单元操作中的质量传递在前面已经详细描述过[2]，下面的内容是对单元操作在药学领域中应用概述的补充。

在质量转移操作中，通常存在不相混溶的两相，其中至少有一相为液体。一般来讲，两相处在相对运动的状态，质量从一相转移到另一相的速率在很大程度上受到施加于液体上的整体运动的影响。在绝大部分干燥过程中，水蒸气从与干燥表面接触的饱和层扩散至空气湍流中。界面层由一个次层和外部区域组成，流体在次层中是层流，而在外部区域是湍流。这些区域中的扩散机制不同。在层流中，只有分子扩散才能造成水蒸气分子穿过流层；而在湍流中，较大气体单元从一个区域向另一个区域的移动导致气体成分的混合。这称为涡流扩散。涡流扩散是个更快速的过程，虽然同时存在分子扩散，但是其对整体运动的贡献很小。在静止的空气中，只发生由分子扩散导致的蒸发，而不存在涡流扩散。

1. 气体的分子扩散

静止流体中物质的转运或层流中流体穿过线性流都是由分子扩散引起的。我们可以想象出两个相邻的室，由含有纯气体A和B的分隔区分离。所有的分子都在做随机运动，一段时间后，他们均远离其初始位置。如果分隔区去掉，一部分A气体就会向气体B的区域移动，其数量取决于当时的分子数。而同时，气体B分子也会向气体A的区域移动。

最后将会发生充分混合。在到达这一时间点前，气体A浓度的逐渐变化以与原室相连的 x 轴表示，这种变化在数学上表示为 $-dC_A/dx$，其中 C_A 为气体A的浓度。因为气体A的浓度随着 x 轴的延伸逐渐减小，所以公式前加上负号。同理，气体B的浓度变化表示为 $-dC_B/dx$。A的扩散速率 N_A，取决于浓度梯度和在 x 方向的平均速率。我们可以用Fick定律来表示这种关系式，即方程（43）：

$$N_A = -D_{AB}\frac{dC_A}{dx} \tag{43}$$

式中：D 为气体 A 和 B 的扩散度，扩散度正比于气体平均速率，取决于温度和气体压力；扩散速率 N_A 通常表示为单位时间、单位面积上通过的分子数。热传递基本方程

(43) 显示：热传递过程的速率与某种驱动力成正比，在方程 (43) 中，驱动力为浓度梯度。

该基本方程适用于许多场合，将讨论限制在稳态情况，此时 dC_A/dx 和 dC_B/dx 不随时间改变。首先让我们来看看等分子对流扩散的情况。

1.1 等分子对流扩散

如果在长度 dx 上没有发生整体流动，气体 A 和 B 扩散的速率一定相等，而且方向相反，即 $N_A = -N_B$。

气体 A 的分压在长度 dx 上改变 dP_A，同理，气体 B 的分压改变为 dP_B。如果总压没有改变的话（没有堆流动），dP_A/dx 一定等于 $-dP_B/dx$。对于理想气体，分压与摩尔浓度有关：

$$P_A V = n_A RT$$

n_A 为体积 V 内气体的摩尔数。因为摩尔浓度 C_A 等于 n_A/V，因此

$$P_A = C_A RT$$

因此，对于气体 A，方程 (43) 可以表示成方程 (44)：

$$N_A = -\frac{D_{AB}}{RT}\frac{dP_A}{dx} \tag{44}$$

D_{AB} 为气体 A 和 B 的扩散度。同理

$$N_B = -\frac{D_{BA}}{RT}\frac{dP_B}{dx} = \frac{D_{AB}}{RT}\frac{dP_A}{dx}$$

因此，假定 $D_{AB} = D_{BA} = D$。如果气体 A 在 x_1 处的分压为 P_{A_1}，在 x_2 处的分压为 P_{A_2}，由方程 (44) 可得方程 (45)：

$$N_A = -\frac{D}{RT}\left(\frac{P_{A_2} - P_{A_1}}{x_2 - x_1}\right) \tag{45}$$

对于气体 B 的对流扩散，类似的方程也可得到。

1.2 通过静止、不扩散气体的扩散

实际中还有一种非常重要的情况：气体 A 扩散通过气体 B，而气体 B 根本没有移动。当在一个干燥表面形成的蒸气扩散进入环境气体时，上述情况便发生了。在液体表面，气体 A 的分压由温度决定。对于水，当温度为 15℃ 时，气体分压为 12.8mmHg (1.7kPa)。如果离开水表面，分压会降低，而且浓度梯度使得气体 A 扩散离开水的表面。同理，气体 B 的浓度梯度也一定存在，水表面的浓度最低。所以气体 B 的扩散是朝着表面方向进行的。但是，因为气体 B 没有移动，所以扩散运动一定要用离开表面的堆流动来平衡。气体 A 的总流量为扩散流量与和堆流动相关的转移量之和。

2. 液体中的分子扩散

用来表示液体中分子扩散的公式与气体的相类似。物质 A 在液体中的扩散速率由公式 (43) 表示。

$$N_A = -D\frac{dC_A}{dx}$$

那么，用来表示稳态等摩尔对流扩散的 Fick's 公式如式 (46) 所示：

$$N_A = -D\frac{C_{A_2} - C_{A_1}}{x_2 - x_1} \tag{46}$$

式中：C_{A_2} 和 C_{A_1} 分别表示在 x_2 和 x_1 点的摩尔浓度。

通过滞留液体层的扩散公式也可以推导出来，但是这些公式的应用却极为有限，因为在液体中的扩散是随着浓度的改变而改变的。此外，除非溶液非常稀，否则总摩尔浓度在每个点都不一样。这些复杂因素在气体扩散中都是不存在的。

液体中的扩散能力相对于气体来说是非常弱的，通常差 10^4 倍。

3. 紊流和层流中的质量传递

如前所述，分子通过层流中液体线性流的运动只能通过分子扩散发生。如果组分 A 的浓度是沿着线性流的方向变化，那么扩散的摩尔率则可由公式 (46) 算出。

当一种液体流过一个表面时，该表面会阻止附近的液体区域，形成一个界面层。如果通过液体的流动是层流，用来描述分子扩散的公式也可以用来评价通过界面层的质量传递。然而，在很多重要情况下，大量液体流动时是紊流，于是认为界面层是由三个不同的流体动态组成。在离表面最远的界面区域，流动是紊流，质量传递是大部分液体相互交换的结果。质量交换非常快且浓度梯度很低。随着表面的接近，在转换区或缓冲区会发生由紊流向层流的转换。在该区域，通过旋转扩散和分子扩散来实现的质量传递相当多。在表面的液层里，约有几分之一毫米仍然存在层流的条件。这个只通过分子扩散来实现转运的层流底层对质量传递起到了最重要的阻抵作用，如图 6 (a) 所示。随着流动越来越没有规律，层流底层的厚度和它对质量传递的阻抗能力都随之减弱。

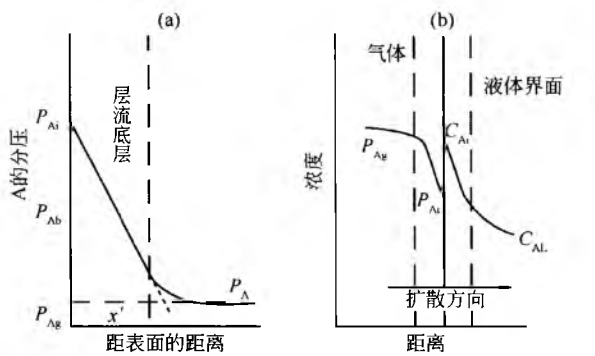


图 6 质量在分界线[(a)] 和界面[(b)] 的转移

评价在这些情况下质量传递速率的一种方法是基于一薄膜层的假设，该薄膜的厚度也能提供与层流、缓冲和紊流组合在一起一样的对质量传递的阻抗。通过传导和对流来类推热量传递是相当精确的，而且热量传递和质量传递之间的定量关系也可以在某些情况下推导出来。不过在这里就不做推导了。图 6 (b) 用来解释一个有效薄层的假设。当气体流过表面时，组分 A 和 B 发生了等相对分子质量的对流扩散。A 远离表面而 B 趋向表面。A 随着与表面距离

Y

的变化而发生的分压的变化如图 6（a）所示。在表面，P_{A_i} 的值在层流底层之上线性降至 P_{Ab}。除此之外，分压稍缓地降至分界层边缘的 P_A。比此值略高的为 P_{A_g}，即 A 在整个系统中的平均分压。总的来说，由于层流的气体含量如此的小，以至于 P_A 和 P_{A_g} 实际上相同。如果说分子扩散是造成扩散的唯一原因，那么 P_{A_g} 的分压则在假设的离存在浓度梯度的表面为 x' 处达到。于是质量传递的摩尔率可表示为

$$N_A = \frac{D}{RT}\frac{P_{A_i} - P_{A_g}}{x}$$

然而 x' 并不知道，于是有

$$N_A = -\frac{k_g}{RT}(P_{A_i} - P_{A_g}) \qquad (47)$$

其中 k_g 为质量传递系数，单位为 cm/s。因为 $C_A = P_A/RT$，式（47）也可以写成

$$N_A = k_g(C_{A_i} - C_{A_g})$$

其中 C_{Ai} 和 C_{Ag} 为薄层两侧的气体浓度。相似的公式也可以描述 B 朝相反方向的扩散。

通过液体层的扩散用公式（48）来表示。

$$N_A = k_l(C_{A_i} - C_{A_l}) \qquad (48)$$

式中：C_{A_i} 是界面上组分 A 的浓度；C_{A_l} 则是它的相内浓度。

在任何情况下，质量传递系数取决于传递物质的扩散率和有效膜层的厚度。后者很大程度上取决于流体的雷诺数，也就是系统的平均速率、密度、黏度和一些线性参数。因次分析可得出下列关系：

$$\frac{kd}{D} = \text{constant}(Re)^q\left(\frac{\eta}{\rho D}\right)^r$$

式中：Re 是雷诺数；k 是质量传递系数；D 是扩散率；d 为系统几何学的特征参数。

这个关系式类似于前面提到的通过强制传导而实现的热传递。无因次群 kd/D 相当于热量传递中的 Nusselt 基团，参数 $\eta/\rho D$ 就是我们所知道的 Schmidt 数，而且也是 Prandtl 数的质量传递配对数。比如说，管道壁上的液体薄膜层蒸发至紊流气体中可以用下列公式描述：

$$\frac{kd}{D} = 0.023Re^{0.8}Sc^{0.33}$$

式中，Sc 是 Schmidt 数。尽管这个公式表达的是实验数据，但与公式（43）比较还是再一次证明热传递和质量传递之间的基本关系。

其他情况下也可以通过经验得出相似的关系。气体正常向液体表面流动或平行向其流动都可以被应用于干燥过程，而且在液体中搅拌固体也可以对结晶和溶解过程提供信息。

4. 界面的质量传递

宏观上界面可以被认为是一个不连续面。而在分子水平，几个分子直径内就会发现一处与另一处的不同。由于分子运动，这个区域处于一种猛烈变化的状态，这个表面层在一秒钟会变化很多次。因此，在实际的界面上分子传递是瞬间完成的，而且在这一点上两相是平衡的。

由于界面没有阻力，两相之间的质量传递可以被认为是一个组分通过两个接触层从一相向另一相的传递，每个接触层都可以用一个质量传递参数来表示。这就是双层理论，也是界面质量传递众多理论中最简单的一个。对于一个组分从气体向液体的传递，这个理论可以用图 6（b）来表示。通过气体膜层，浓度表示为分压，从本体浓度 P_{A_g} 降至界面浓度 P_{A_i}。而在液体中，浓度是从界面浓度 C_{A_i} 升至本体浓度 C_{A_l}。

在界面存在平衡条件。曲线的中断是由于组分 A 对两相的亲和力不同而且表示浓度的单位也不同。当然，本体相是不平衡的，它也是取代平衡条件的一个尺度，它代表了质量传递的驱动力。如果这些条件已知，那么总的质量传递参数都可以计算出来，并用于评价质量传递速率。

如前所述，在多个过程中会发生组分从一个混合相向另一个混合相的传递。比如液－液提取、过滤、气体吸附和蒸馏。在其他诸如干燥、结晶和溶解这些过程中，一相可能就包含一个组分。浓度梯度只是在一相中通过由相关的平衡条件得出的界面浓度而建立起来的。例如，在干燥过程中，与水平衡（如饱和）的空气层假定存在于液体表面，向紊流层的质量传递则用公式（46）表示，其中界面浓度为饱和浓度。溶解的速率是由界面浓度和溶液浓度之差及质量传递系数决定的。

参考文献

1. Markovitz, R. E. Heat Transfer in Process Vessels. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001.
2. Graham Nairn, J. Mass Transfer in Unit Operations. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001.

进一步阅读

Beard, J. Dynamics of Fluids in Porous Media; Dover Publications, Inc.: Mineola, NY, 1972.

Bird, R. B.; Stewart, W. E.; Lightfoot, E. N. Transport Phenomena; John Wiley & Sons: New York, 1960.

Chhabra, R. P. Bubbles, Drops and Particles in Non-Newtonian Fluids; CRC Press: Boca Raton, FL, 1993.

Cheremisinoff, N. P. Practical Fluid Mechanics for Engineers and Scientists; Technomic Publishing Co., Inc.: Lancaster, PA, 1990.

Cho, Y. I.; Hartnett, J. P. Non-Newtonian Fluids in Circular Pipe Flow. Adv. Heat Transfer 1982, 15, 59－141.

Coulson, J. M.; Richardson, J. R. Chemical Engineering; Pergamon Press: New York, 1977; 1.

Cussler, E. L. Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems; Cambridge University Press: New York, 1984.

Fayed, M. E. ; Otten, L. Handbook of Powder Science and Technology; Van Nostrand Reinhold, Co. New York, 1984.

Hartnett, J. P. ; Kostic, M. Heat Transfer to Newtonian and Non-Newtonian Fluids in Rectangular Ducts. Adv. Heat Transfer 1989, 19, 24—356.

McCabe, W. L. ; Smith, J. C. ; Harriott, P. Unit Operations of Chemical Engineering; McGraw Hill, Inc. ; New York, 1993.

Meyer, R. E. Introduction to Mathematical Fluids Dynamics; Dover Publications, Inc. ; Mineola, NY, 1982.

Neumann, B. S. The Flow Properties. In Advances in Pharmaceutical Sciences; Bean, H. S. , Beckett, A. H. , Carless, J. E. Eds. ; Academic Press; New York, 1967; 2, 181—221.

Orr, C. Particulate Technology; Macmillan; New York, 1966.

Ozisik, M. N. Boundary Value Problems of Heat Conduction; Dover Publications, Inc. ; Mineola, NY, 1968.

Prandtl, L. ; Tietjens, O. G. Fundamentals of Hydro- an Aeromechanics; Dover Publications, Inc. ; Mineola, NY, 1957.

Perry, R. H. ; Chilton, C. H. Chemical Engineer's Handbook; McGraw Hill; New York, 1973.

Taylor, R. ; Krishna, R. Multicomponent Mass Transfer; John Wiley & Sons; New York, 1993.

The Mathematics of Diffusion; Crank, J. Ed. ; reprinted 1992 Oxford University Clarendon Press; Oxford, 1975.

（李 丁 译）

Y

Y

药学数据的数学建模

David W. A. Bourne

University of Oklahoma, Oklahoma City, Oklahoma, U. S. A.

引言

本章目的是向读者介绍可以应用于药学特别是药代动力学数据的数学模型，重点介绍了非线性回归法在确定合适模型和最佳拟合参数方面的应用。本章讨论了许多主题。包括模型的拟合，如显函数、隐函数或微分方程模型，数学积分法，最优化算法，加权分析；模型计算值评估和模型指导试验设计等。

讨论从建模的原理和发展合适模型的一般方法开始。本章首先对多种药代动力学和其他药学模型做了一个简单的回顾，接着叙述了确定因变量计算数值的方法。数据建模的下一个步骤是应用恰当的优化程序进行参数估计。不是所有的数据点都具有相同的误差或不确定性，因此应当考虑使用权重分析。现在广泛运用的多种权重方案各有优点。在任何一种数据建模过程中，评估计算机输出值都是相当重要的一步。每个计算机程序都会输出多种信息，如数据和残差散点图、观测值、计算值和残差数据列表，以及许多统计参数。这些信息对结果的总体评价具有重要意义。最终确定的试验和模型往往不是最初的试验和第一个模型。可能需要确定最佳模型来解释获得的数据。可能需要进行很多实验，以发现最佳的取样时间或取样部位。

建模的理由

人们希望试验数据的成功建模可以简单精确地再现真实世界。成功的模型可以用于探索机理，通过提炼收集到的数据简化试验结果的报告，并进行有效地结果预测。

1. 机理探索

建模有助于研究者探索控制不同过程的潜在机理。研究者可以在理论上或在初步观测的基础上提出假说，这种假说成熟之后可以形成一种或多种数学描述。研究者在该假说的基础上，设计和指导试验，并分析结果。最成功的假说或数学模型应该能很好地解释收集到的数据。预测值与实测值间的差异可以导致对假说（或试验技术）的修正。研究者可能还需要扩展原来的试验，以支持和确证该假说。例如，单剂量给药建立的药代动力学模型可以通过改变给药途径或采用多剂量给药来检验。

2. 数据提炼

数学模型可以进行大量的数据压缩。连篇累牍的数据可以用几个与选定模型相关的参数进行概括。药代动力学研究中，多个患者的血浆药物浓度随时间变化的数据可以通过分布容积和消除半衰期概括。其他模型需要的参数可能较多，但总能显著压缩描述研究结果所需要的信息。不同温度下进行的大量样品的药物稳定性研究可以用室温下降解1%的时间来概括。确定适当的模型对总结实验研究是很有用的方法。

3. 预测

一个经全面测试的、参数的数值已确定的模型应当具有良好的预测能力。成功的给药方案设计取决于合适的药代动力学模型的建立。只有在由相似患者确立的正确药代模型和参数的基础上，才有可能使用有限的患者数据直接或通过 Bayesian 分析计算患者的正确给药方案。

一般方法

详尽的试验设计变化相当大，取决于研究的领域、对象、所能获得的材料和数据采集的方法。试验者应当尽可能多地控制或测定变量，并充分定义研究材料和分析方法，还应当优化采样方案，以获取最有情报价值的数据（最优化取样方案后述）。试验设计和数据采集后，就可以用数学模型来分析结果了。通常研究者要评估多个模型及数据的有效性和数据表。这个周期可能包括校正分析和（或）校正试验（图1）。区分不同模型和选择最佳采样时间的方法将在下文做更详细的论述。

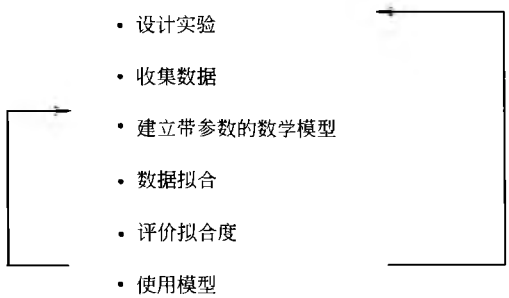


图1 数学建模的一般方法

数学模型的讨论限于假设仅有 y（因变量）值产生误差的方法。目标或最小化函数通常受到观测值与计算值之间的加权残差和加权残差方和（WSS）的限制。数学建模的目的是调节参数值，以获得最小 WSS 值。

1. 仅 y 值产生误差

在任何试验中，自变量、因变量或是两者都可能产生

测量误差或随机误差。然而多数常见建模程序假定自变量可以准确设定或是测量时没有显著的误差。因此所有的误差都假定只发生在因变量上，精确测量或控制自变量就变得很重要。例如，当时间是自变量时，应当精确记录实际时间，在数据分析中采用实际时间而不是预计时间。虽然大多数药学模型限制偏差仅发生在 y 轴，但也有人在模型拟合的过程中尝试考虑 x 值的偏差[1]。

2. 最小二乘法

任何建模的目标都是使计算曲线（以相关数学模型为基础）尽可能地接近采集的数据。各数据点与计算值的差值（垂直方向——x 值无偏差）称为残差。如果残差正值与负值相消，即使个别数据的残差较大，残差之和也可能为零。而采用残差的绝对值可以解决这个问题，采用残差方也能达到预期的效果，而且更为有用，这就是最小二乘法。这种方法可延伸为对估计方差的倒数进行加权，这就是所说的目标函数，WSS，如式（1）所示（计算 n 个点）：

$$\mathrm{WSS}=\sum_{i=1}^{i=n}(\text{计算值}_i-\text{观测值}_i)^2\times\text{权重}_i \qquad (1)$$

常规加权非线性回归的目的是最小化目标函数。如下所述，采用扩展最小二乘方［式（23）］或做 Bayesian 分析［式（24）］时，目标函数可以添加更多的项。

3. 参数调整

对选择模型的可调参数进行系统修正可以使 WSS 值达到最小。改变参数可以改变计算值和 WSS 值。各种非线性回归程序中的最小化算法的目标是以最有效的方式获得最小 WSS。图 2 说明 WSS 值随参数值的变化情况。

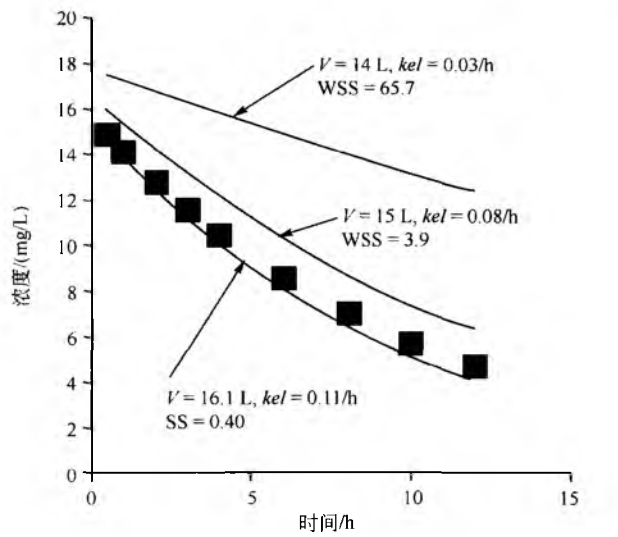


图 2 说明参数值对 WSS 值的影响。使用单室静脉注射模型加权计算，权重为浓度值的平方的倒数

数学模型

大多数药学结果可以量化并用数学模型来表示，由此得到的模型包括试验中测定的因变量（y）、自变量（x）、参数（p，可调节或未知）和常数（c）。因此数学模型具有如下一般形式：

$$y=f(x,p,c) \qquad (2)$$

药代动力学和药剂学方面的许多方程可以看作是数学模型应用的例子。

1. 药代动力学

药代动力学用数学方法描述药物的吸收和分布情况，它需要建立数学模型或采用已有的模型。药代动力学领域使用多种不同的模型，包括房室模型、生理模型和药效学模型。

房室模型：这种模型将研究对象看作许多混合均匀的小室。当所有过程的速率为一级时，方程通常为指数项和的形式。因而二室模型用式（3）表示：

$$Cp=Ae^{-\alpha t}+Be^{-\beta t} \qquad (3)$$

式中：Cp 为因变量（浓度）；t 为自变量（时间）；A、B、α、β 为参数。

对于多室模型，如米氏（Michaelis-Menten）消除动力学，用微分方程表述会更简单。因而以一级消除速率和米氏代谢过程的药物：

$$\frac{dCp}{dt}=-\frac{V_m\cdot Cp}{K_m+Cp} \qquad (4)$$

$$\text{起始条件}=\frac{\text{剂量}}{V}$$

式中：dCp/dt 为药物浓度改变的速率；Cp 为因变量；V_m、K_m 和 V 为参数；剂量为常数。解微分方程可得 Cp 值与时间的关系。房室药动学模型的各种方程的更多信息参见 Gibaldi 和 Perrier[2]、Bourne、Triggs 和 Eadie[3]、Wagner[4,5]等的文章。

生理药动学模型（PBPK）：与房室模型中大多数参数是抽象的或建立在经验基础上不同，PBPK 模型包含许多生理学相关的参数。这些参数包括器官或组织的体积、血液或血浆流速、组织和血液分配常数等。一些研究还包括药物与蛋白或组织的结合参数。药物消除一般表示为肾、肝或其他清除率。这些模型可以用基于物质平衡的微分方程表示，因而在组织或器官中药物浓度改变的速率表示为

$$V\cdot\frac{dC}{dt}=\text{流入药物质量}-\text{流出药物质量} \qquad (5)$$

对于单一非线性消除的器官，有：

$$V\cdot\frac{dCp_i}{dt}=\left[Q_i\cdot C_b-\frac{Q_i\cdot C_i}{R_i}\right] \qquad (6)$$

式中：C_i 和 C_b（分别指药物在组织 i 和血浆的浓度）为因变量；t 为自变量（时间）；Q_i、R_i 和 V_i 分别指组织血流速度、组织-血液分配系数和组织体积。这种模型的详细描述参见 Gibaldi 和 Perrier[2]的著作及 Bischoff 和 Dedrick[4,6]的

论文。

药效学模型：这种模型用于建立药效（因变量）和药物浓度（自变量）或时间（自变量）之间的联系。这些模型涉及分布参数如体积和速率常数，也包括药效参数如 E_{max}（最大效应）和 $EC_{50\%}$（达最大效应一半时的药物浓度）。Hill 方程成功描述了药效与药物浓度的关系。这种模型更多信息参见 Gibaldi 和 Perrier[2] 的文章或 Sheiner 等[7] 的论文。Jusko 提出另一种模型，该模型假设受体部位平衡[8]。最近 Jusko 等提出了四个基本模型，以描述药物的间接效应，如耐药性或反弹[9,10]。

2. 稳定性

药物稳定性研究可以使用零级、一级或二级反应模型。在测定各种可能催化作用的影响时，将反应速率视为 pH 和缓冲盐浓度的函数。例如水解反应可能为伪一级反应，如式（7）所示：

$$\frac{dC}{dt} = -k' \cdot [C] \tag{7}$$

其中一级反应速率常数 k' 可以用式（8）描述：

$$k' = k_0 + k_H \cdot [H^+] + k_{OH} \cdot [OH^-] + k_{HB} \cdot [HB] + k_B \cdot [B^-] \tag{8}$$

式中：k_0、k_H、k_{OH}、k_{HB} 和 k_B 分别为无催化、酸催化、碱催化、缓冲液（酸）催化和缓冲液（碱）催化时的反应速率常数。其他描述药物稳定性研究的模型参见相关文献，如 Carstensen[11] 的专著等。

数据模拟

数学模型涉及多种不同种类的方程，这些方程可能是显方程、隐方程或微分方程。用显方程表述的因变量容易计算。例如口服单剂量药物后，血浆药物浓度可通过式（9）计算：

$$Cp = \frac{F \cdot 剂量 \cdot ka}{V \cdot (ka - kel)} \cdot (e^{-kel \cdot t} - e^{-ka \cdot t}) \tag{9}$$

隐方程包含没有从其他项中完全分离出来的因变量。例如，Wagner[12] 描述了静脉注射后遵循米氏消除动力学的药物浓度，见式（10）：

$$C_0 - C + K_m \cdot \ln\left(\frac{C_0}{C}\right) = V_m \cdot t \tag{10}$$

式中因变量 C 出现在方程的两部分，不能直接计算。因此需要用迭代法计算每个 t 值时的 C 值[13]。

积分法

药学中许多过程是动态的，因而这些过程的模型通常涉及微分方程，必须在最优化过程中对每步进行积分。可以采用多种积分方法，下文将讨论其中的几种。

当模型表述为微分方程时，在进行优化前通常需要积分。因而微分项必须转化为因变量值。例如：

$$\frac{dCp}{dt} = -kel \cdot Cp \tag{11}$$

可以转化为积分式（12）：

$$Cp = \frac{剂量}{V} \cdot e^{-kel \cdot t} \tag{12}$$

微分方程的转换可以用分析法或采用合适的计算机算法进行数值计算。分析积分需要大量数学计算（或不可行），而且数值积分也需要大量计算机计算。最佳方法的选择取决于涉及的方程。

1）拉普拉斯变换

微分方程的积分方法比较棘手，通常在大学里是一门单独的课程[14]。但拉普拉斯变换是有用的方法之一。Mayersohn 和 Gibaldi[15,16] 的两篇论文给出了拉普拉斯变换极好的指南，Benet 和 Turi[17] 及 Benet[18] 提供了更高级的方法，如输入和输出分布函数及解微分方程的“指纹”法。

Yano 等[19] 提出另一项技术，采用快速拉普拉斯逆变换生成积分方程数据。因而模型可用拉普拉斯变换方程的形式描述，并采用数值方法求解。

2）数值积分

数值积分以大量的微分方程和初始条件为起点，然而如今计算机程序可进行积分。计算机运用仔细定义的算法能从初始条件开始运算，根据微分方程给定的斜率逐步增加自变量的值（通常为时间）向前计算。利用仔细选择的算法可以有效地计算得到精确接近的结果。一般方法可通过观察简单的点-斜率法，比较容易理解，如 Euler's 法。然而，这些方法并不总是最有效的。Runge-Kutta 法，包括经 Fehlberg 修正的方法，在药代动力学和药剂学一般的微分方程方面有优势。对于速率常数差异相当大的体系，即所谓的“Stiff”体系，其他方法更有用。

点斜法：Euler's 法直接以初始条件为起点，以微分方程为斜率（图 3）。将单个微分式（13）的简单模型用一级

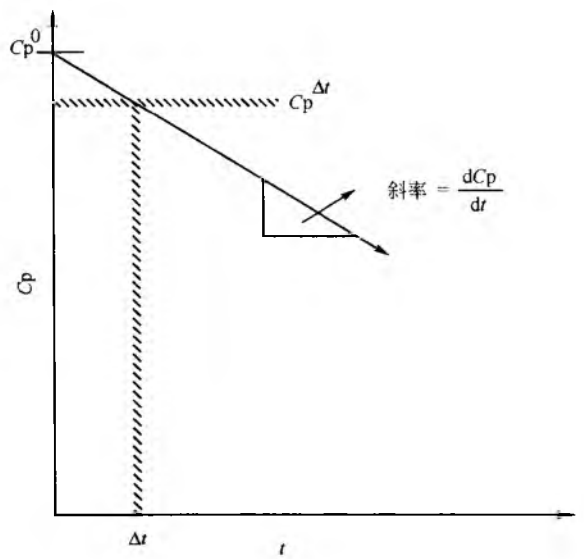


图 3 点斜法

速率方程表示：

$$\frac{dCp}{dt} = -kel \cdot Cp \tag{13}$$

初始条件 $t=0$ 时，$Cp=Cp^0$。因此 Cp 从 0 时刻到 Δt 时刻的变化可用式（14）表示：

$$\Delta Cp = \frac{dCp}{dt} \cdot \Delta t \tag{14}$$

Δt 时刻，Cp 值由式（15）计算：

$$Cp^{\Delta} = Cp^0 - kel \cdot Cp \cdot \Delta t \tag{15}$$

如果 Δt 足够小，就能相对准确地计算出结果。但为达到合理的精确度通常需要非常小的步长，而截断误差就会很显著。因此这种方法通常不适用于非线性回归。

Euler's 法源自于一种更普遍的泰勒算法的数值积分。假定一阶微分方程初始条件 $[dy/dx] = y' = x$ 的函数，$y=f(x, y)$，且 $y(x_0)=y_0$，如果 $f(x, y)$ 可分别对 x 和 y 微分，那么在 $x=(x_0+h)$ 时的 y 值可以在泰勒级数展开式中 $x=x_0$ 时得到：

$$y(x) = y_0 + hy'(x_0) + \frac{h^2}{2!} \cdot y''(x_0) + \cdots \tag{16}$$

式中：h 为 x 的增加值，即 Δt。可以发现只包括式（16）右侧前两项时直接为 Euler's 法。公式右侧项数越多，这个方法的准确度就越高。然而由于需要高阶导数，所以这种方法不能广泛使用。在建立更通用的方法如 Runge-Kutta 方法时，这种方法理论上是有用的。

Runge-Kutta 法：Runge-Kutta 法试图在改善计算准确性的同时避免高阶导数。一般方法是确定选定步长子区间时一级微分方程的值。这些子区间的组合方式可从泰勒展开式中得到。最常见的 Runge-Kutta 方法是经典的四级展开式。每一步函数值都要计算四次，以改善计算的准确度。这对复杂函数可能是个缺点。这个方法的另一个问题是缺乏自动步长控制。Runge-Kutta 方法其余细节见数理分析的教科书[13]。

Runge-Kutta-Fehlberg 法是对 Runge-Kutta 四级展开法的进一步改进。他采用第五函数评价以确定合适的步长。这种方法看起来对非 Stiff 微分方程体系非常有效。该方法相关其他细节和计算机程序参见 Fehlberg[20] 的报告和 Watt 和 Shampine[21] 的文章。

多步法：另一类称为多步法的积分方法在计算“下一个”值时需要用到多个先前值。点-斜率法或 Runge-Kutta 法只需要一个起点（和微分方程）就能计算 $(x+h)$ 对应的因变量值。通常使用的四步法在计算 $(x+h)$ 对应的 y 值时需要使用 $(x-3h)$、$(x-2h)$、$(x-h)$ 和 x 对应的 y 值。Adams and Bashford[22] 法就是这种类型。

这种方法的优点在于每一步只需要一个（额外）函数赋值，而典型的 Runge-Kutta 法需要四或五个赋值。因此这种方法更快捷。这种方法主要的缺点是不能自发开始。另一种方法 Euler's 或 Runge-kutta 法，需要计算 x、$(x+h)$ 和 $(x+2h)$ 后，才能继续运用 Adams-Bashford 多步方程计算。当步长改变时需要附加额外的初始值。

预测修正技术是多步法的延伸，因此可以运用 Adams-Bashford 方程计算 $(x+h)$ 对应的 y 预测值。然后第二个修正方程用于修正 y 值。如果预测值和修正值的偏差在规定误差限度以内，计算转入下一步，否则将调节步长使偏差控制在特定范围内。由于每一步函数赋值少，这种方法比 Runge-Kutta 法快捷，然而它们都不能自发开始。

Stiff 方程法：Stiff 微分方程系统常见于生理模型，即快速过程和慢速过程共存于同一模型。快速反应常数和慢速反应常数之比可看作 Stiff 指数。当 Stiff 指数大于 500 时，很多“非 Stiff”积分法就无效了。用以解 Stiff 刚性系统的 Gear 法已被广泛接受[23,24]，而且已经整合进一些非线性回归程序如 SAAM Ⅱ 和 Boomer 等。Adam 和 Gear 法都包含在 Gear 的 DIFSUB 算法里，用户必须指定其希望使用的方法。包含在 ADAPT Ⅱ 程序里的微分方程解决方案 LSODA 可根据需要自动在 Adam 和 Gear 法之间转换。

模型拟合

对观测值进行模型拟合是一项重要的任务。每种被研究的数学模型都由自变量、因变量、常数（可能有）和参数组成，其中参数要估算。目标是通过调节参数值减少观测值和计算值之间的整体偏差。如前所述，这些讨论的方法假定自变量没有偏差。一般而言，最佳拟合的标准是观测值和计算值残差平方的加权和，即 WSS 最小。被选模型可部分通过能否准确描述观测值来验证。

1. 图形法

通常将数学模型转换成直线方程是可行的。例如静脉注射后的单室药代动力学模型可以表述为前述的微分方程或指数方程。将指数方程取自然对数，可以得到一条直线：

$$\ln(Cp) = \ln(Cp^0) - kel \cdot t \tag{17}$$

因此，在半对数坐标纸上画出这些数据点，并画一条通过它们的直线，就能从截距读出 Cp^0，并从自然对数斜率计算 kel 值，如式（18）所示：

$$kel = -\text{斜率} = \frac{\ln(Cp^1) - \ln(Cp^2)}{t_2 - t_1} \tag{18}$$

图形法有许多优点，通常很快捷，而且操作仔细可以得到准确的结果。这个方法主要的优点是能“看到”数据，并可从目测判断选定的数学模型是否出现了系统偏差。图形法评估数据可以引导研究者考虑其他模型。图形法在推算初始参数值时非常有用。然而有时不能生成直线方程，所以这些方法不是通用的。在转换模型生成直线时，观测值往往经过了“转换”，可能是取观测值的对数或倒数，其他模型需要更多的相关转换。这种做法不仅歪曲了数据，同时也歪曲了数据的偏差和变异性。使用图形法进行线性回归时，假定每个 x 值的偏差是相似的。然而数据转换后，情况就并非如此了。另一个特别与使用对数变换或半对数图形相关的问题是发生视觉扭曲。大多数图形受准确性最差的点影响，即最后几个浓度最低的点（定义最模糊的点）可以决定整个图。因此，虽然图形法如半对数曲线法在确

定初始值时是有用的，但却并不适合于完整的数据分析或表达最终结果。

其他方法应用于更复杂的模型。这些方法包括曲线剥离法（curve stripping）或残差法[2]，可以手动或使用计算机程序如 CSTRIP 和 ESTRIP 等[25,26]。这些方法可以将复合指数曲线拆解为组成部分以进行初步估算。其他方法包括专用于单室或二室药代动力学模型的反卷积法（deconvolution method）[27,28]。反卷积法的目标是从数学上把静脉给药后的结果从口服或血管外给药数据中剥离开，这样可以得到只与输入或吸收过程相关的结果。学者们还提出了一些不依赖于特定房室模型的通用方法[29~31]。

2. 非线性回归分析

对于所有原本非直线的数学模型，非线性回归分析常常是最好的方法，观测值和相应因变量可以不经转换而进行分析，因此数据和偏差或方差在分析中不会扭曲。如果需要，可以使用明确定义的权重方案。此外还可以进行多步观测设定。

非线性回归分析需要相对复杂的计算，所以很适合于计算机辅助。然而，程序必须具备完善的步骤次序或算法。一些方法优于其他方法，程序要在加权平方和面上找到最小点（目标或最小函数）。对于两个参数可用三维曲面表示（图 4）。

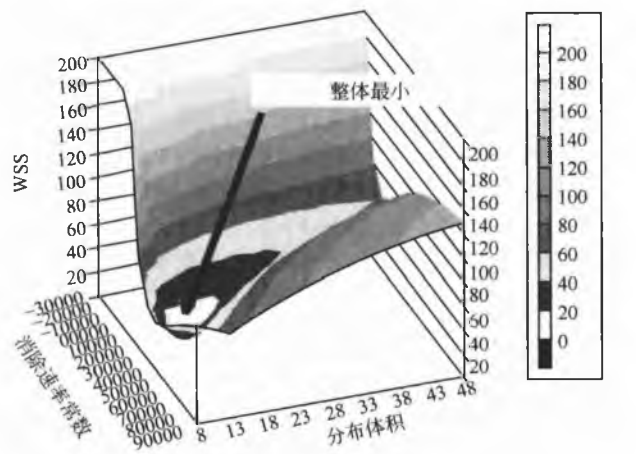


图 4 WSS 与消除速率常数和分布体积的二参数模型的三维曲面图

参数更多时就很难描述 WSS 曲面的形状了，但是程序依然趋向于 WSS 的最小值。可能有多个局部最小值，这取决于 WSS 面的形状，即它们是低于周围表面的区域，但不是整体最小值。非线性回归分析的目标是达到整体最小值。有益的策略包括：①仔细计算初始赋值；②用不同的初始赋值反复分析；③仔细评估程序输出，尤其是计算值和观测值随时间（x 值）变化的曲线。

许多基本算法经过大量改进之后能用于寻找整体最小值，本章对其中一些方法做了简要描述。它们是网格搜索法、最快下降法、Gauss-Newton 法、Marquardt 法和单纯型法。

2.1 网格搜索方法

这种方法能提供更多信息，但是速度可能非常慢。它的主要目标是产生平方加权和的曲面图，此外评估计算得到的最小 WSS 值。图 4 所示的三维曲面就是用这种方法算出来的。计算在输入每个目标参数上限和下限的基础上进行。这个范围被分为几个步骤，程序在网格每个点上计算 WSS。步骤越多，曲面越平滑，但计算过程越长。一个三参数的问题，每个参数十步（相对粗糙的网格）需要 1000（10×10×10）次 WSS 计算。参数和步数多时计算变得冗长。这种方法并不常用于非线性分析，但它的输出有指导意义。

2.2 最快下降法

如果把 WSS 曲面看作和地理截面相似的有峰和谷（至少对两参数面是如此）的曲面，那么最快下降法看起来就像沿着圆球运动的轨迹向最小值运动。转化为计算机算法后，一些缺点就更明显了。最基本的方法是计算初始（或当前）参数值点的曲面斜率。当各个参数 P 细微增加时可以通过计算 dWSS/dP 值来计算上述点的曲面斜率。综合所有参数的偏微分，可以计算得向最小值运动的方向。这个问题的第二部分是向特定方向运动的距离 h，该值必须通过计算该方向的斜率进而确定最小 WSS 来确定。这意味着 WSS 要有额外的计算，所以这个过程效率较低，尤其是接近最小值时效率非常低。利用式（19）可以得到新的参数值：

$$P_{新} = P_{旧} - h \cdot \frac{dWSS}{dP} \tag{19}$$

新值在下一次重复计算中用作 $P_{旧}$。

2.3 Gauss-Newton 法

如果我们假设在初始评估和整体最小值之间的 WSS 面是凸面，利用泰勒级数展开式可以使 Gauss-Newton 近似值更进一步接近最小值[32]。这样可以利用式（20）计算曲面上的下一个点：

$$P_{新} = P_{旧} - \frac{dWSS}{dP} \Big/ \frac{d^2WSS}{dP^2} \tag{20}$$

这种方法可以用于计算方向和距离。接近整体最小值时，表面通常比较规则，收敛效应变得非常显著。远离最小值时，面可能不是凸起或平滑的，方法可能变得缓慢甚至远离最小值。因此好的初始估算是非常有用的。

两项改进可以改善 Gauss-Newton 法。第一种是衰减法。利用由式（20）计算得到的 $P_{新}$ 可以计算新的 WSS。如果这个 WSS 比初始 WSS 更糟，那么步长减半并重新计算 WSS。重复该过程直到出现一定预设数量的衰减或者获得更好的 WSS。如果 WSS 面非常平滑，那么数值的不稳定性会造成在接近最小值时出现过多的衰减。这种情况下，最终参数值的不确定性（以变异参数或置信区间表示）可

能很大。

第二种改善 Gauss-Newton 法的方法是 Marquardt 修正[33]。在此情况下引入新项 μI 来修正 $P_{新}$ 的公式，如式（21）所示：

$$P_{新} = P_{旧} - \frac{dWSS}{dP} \Big/ \left(\frac{d^2WSS}{dP^2} + \mu I\right) \qquad (21)$$

分析从 μ 的较大值开始，μ 具有使方程向最快下降法方向运动的作用，远离最小值。随着计算接近最小值，μ 逐渐减小自动接近 Gauss-Newton 法，更接近最小值。

2.4 单纯形法

另一种方法不同于前述方法的是最小值单纯形法[34]。它需要构建一个有 $m+1$ 条边的几何形状的单纯型，m 是 WSS 曲面的参数。计算单纯型各角的 WSS 值并加以比较。单纯型穿过 WSS 面向最小值靠近的运动可由少数几条规则来确定。例如最高 WSS 点反射通过图心（单纯型的中心）以产生新点。如果这个点对应最小 WSS，继续延伸该点。较大 WSS 点使单纯型收缩。通过一系列这样的步骤，单纯型通过 WSS 面向最小值运动。虽然单纯型法相对较慢，但是它具有计算简单的优点，适用于一些非线性回归的问题。

3. 权重方案

选择并描述合适的模型后，必要时选择数值积分方法和拟合运算法则后，数学模型的建立者应该为分析的数据选择一个权重方案。理想状态下，各个点都是独立的，具有正态分布偏差。即便如此，各点变异或偏差可能并不相等。因而在计算总体 WSS 时应该采用方差倒数权重。在选择“最佳”权重方案时，各数据方差、标准差（SD）、变异系数及这些值在所有待分析的数据集中的变化情况都是很有用的。稍后介绍的加权残差散点图可用来较好地估算权重方案。

如果一次分析一组数据，且各个数据点变异相近，那么可以采用非加权回归法，即各数据点权重相同。当变异较小时，采用非加权回归也是合适的。对于物理体系，权重方案显得并不重要。而当数据中出现显著误差或不确定性时，权重方案变得重要多了。在药代动力学等生物研究中，测量值的误差可能非常大，选择权重方案显得更加重要。

当因变量误差较大且分布在相对大的区间时，必须谨慎选择权重方案。当一组数据的 CV 为常数时，各点可能有±5%的误差，可以估算权重方案。因为 CV=SD/值：

$$SD = 观测值 \times CV$$

$$方差 = 观测值^2 \times CV^2$$

对于一套数据，可以忽略 CV^2，但是同时拟合多组数据时，CV^2 值就非常重要。因而权重应该与观测值平方的倒数成比例。其他权重方案具有更一般的形式，其中 a 和 b 为常数[35]：

$$方差 = a \times 观测值^b$$

可以规定分析灵敏度项：

$$方差 = a + b \times 观测值^c$$

另一种可能是对先前数据使用较小权重[36]，这种方法对有较早的浓度-时间数据的临床环境下尤其有用。

$$变异 = a + b \times 观测值^c \times d^{(t_{last} - time)}$$

d 通常介于 1.01～1.05 之间。

仔细考虑数据可能提出许多关于估算数据误差的方差公式。分析者应该考虑选定的权重方案产生的整体结果，尤其是确定加权残差散点图是否让人满意。

如果分析者要同时针对多组数据集建模，选择适当的权重方案就更加重要了。例如，采集血浆药物浓度和累积尿清除量的数据时，结果血药浓度可能介于 0～25μg/mL 之间，尿中累积药物量介于 0～250mg 之间，两者具有截然不同的方差值。如果采用非权重分析，血浆数据（浓度小的点）通常被忽略。反之如果尿中排泄药物量以 g 而不是 mg 为单位，这些数据就可能在拟合时被忽略，因为它们数值上比血浆药物浓度小得多。显然必须选择适当的权重方案。在分析静脉给药和口服给药的血浆药物浓度时，会遇到相同的问题。计算机程序输出尤其是加权残差散点图有助于确定权重方案。

4. 迭代加权最小二乘方

一般加权最小二乘方中的方差公式使用观测值。由于观测值在拟合过程中保持不变，所以便于计算。然而在方差计算公式中用计算值代替观测值也有一定的优势。例如，非常低的点（可能有很大偏差）不能赋予不成比例的权重。因此迭代加权最小二乘方方法是有用的[37]。

5. 扩展最小二乘方

扩展最小二乘方（ELS）是另一种利用数据自身确定方差公式从而加权数据的方法[37,38]。方差公式的参数和选定模型的参数都包含在拟合过程中。因此额外的数据对成功分析是必须的。此外分析者必须决定方差公式的形式。典型方差公式如下所示：

$$方差 = a \times 计算值^b$$

式中：a 和 b 为拟合数据的参数。由于方差计算值变得非常大，不管数据拟合情况如何，WSS 值将自动变得非常小，所以目标函数必须随着 ELS 的方法而改变。因此把 ln（方差）项作为补偿加入 WSS 公式，最小目标函数变为

$$目标函数 = \sum_{i=1}^{i=n} \frac{[C(观测值)_i - C(计算值)_i]^2}{方差(P, PV, t_i)} + \ln[方差(P, PV, t_i)] \qquad (22)$$

式中：P 为模型参数；PV 为方差公式的参数；n 为数据的个数。这种方法包含在非线性回归程序 ADAPT Ⅱ 和 NONMEM 中。

6. 贝氏分析

临床药代动力学数据分析面临着另外的挑战。通常从患者个体获得的样本数量是有限的，某些情况下只能得到一两个样本。如果能获得群体药代动力学值，仍然可能采

Y

用贝氏方法分析有限的临床信息[36]。利用患者和群体信息，目标函数成为观测值和计算值（如同在加权最小二乘方法中一样）的残差及群体参数和计算参数间残差的方程，如式（23）所示：

$$\text{目标函数}=\sum_{i=1}^{i=n}\frac{[C\text{（观测值）}-C\text{（计算值）}_i]^2}{\text{数据点方差}}+\sum_{j=1}^{j=m}\frac{[P\text{（群体）}_j-P\text{（计算值）}]^2}{\text{参数}_j\text{方差}} \quad (23)$$

7. 群体数据分析

个体数据的典型药代动力学分析要求对各个参数的值和方差（或标准差）进行估算。计算出的方差用于评价拟合度、数据量是否充分和数据的偏差。如果在大量个体上反复运用这种分析，也有可能获得群体均值和个体间方差。从每个个体获取足够数据，使用任一非线性回归程序的两步法都非常有效。

现在有一些程序能同时有效模拟分析群体中的数据。这种方法具有显著优点，即每个个体所需的样本数量可以很少。然而应用从多个个体获取的数据，可以完成分析，并获取个体间和个体方差的信息。这些程序包括用于参数分析（模型依赖性的）的 NONMEM 和 WinNONMIX 及用于非参数分析（非模型依赖的）的 NPEM[39]。该方法较好地补充了贝氏法。一旦获得药代动力学参数的群体值后，可以用贝氏法估算个体患者的药动学参数，优化药物治疗。

7.1 评价计算机程序输出

计算机程序完成运算后，就应该仔细评价其输出了。输出的每一条线都要找出原因。明显的数据输入错误可以从数据表或图中看出，而模型错误较难发现。每个计算机程序都会向用户提供一系列信息。评价输出时，可以评估数据拟合度、使用的权重方案和参数值。非线性回归程序输出的每一个项都应该仔细考虑。

7.2 观测值和计算值

观测值和计算值表包括观测的 x 和 y 值。一些程序对数据该如何输入很敏感，数据输入错误经常发生。应该检查这个表以确保程序在计算正确的数据。应该比较计算值和观测值，如果两者差距大，说明参数值或模型选择可能存在问题。这个表通常包括残差或加权残差，这些值应当是大小相近，随机为正值或负值。这个表最重要的用途是确保输入正确的观测值。

多数程序提供观测值和计算值对独立变量 x 的曲线。在线性或半对数轴上，上述曲线是相似的，计算值曲线接近观测数据。如果观测值和计算值看起来方向不同，应当怀疑是否使用了不正确的模型。如果两条曲线有相似的形状，但不重叠，这可能是由参数值限度引起的。有时程序可能得到的是局部最小值。重新进行更好（不同的）的初始估计分析可能会有所帮助。这个图可用于判断不正确的数据输入或离群值。

另一种经常使用的是计算值对观测值图（用一条线代表同一性）。这是一个评估所选模型的敏感图。如果体系明显地偏离同一线，这暗示模型中需要另外的参数。

8. 最终参数值

多数程序给出参数最终的“最佳拟合”参数值时，会给出这些值不确定性的指标。参数值远离预期结果暗示可能选择了不正确的模型，或者是指定了不恰当的模型限制。单位不正确也能带来问题。数值偏差可表示为 SD 或 CV。有时也能计算 CI。高 CV，大于 20%尤其是大于 50%，通常意味数据不能确定某个参数，或者模型的参数太多。高 CV 值可能是数据量少或数据偏差大的结果，需要从模型其他部位取样以完全确定目标参数。这就成为一个稍后将讨论的可辨识性问题了。很多程序也给出了估计参数的相关系数矩阵。相关系数大（>0.95）可能意味着这个模型参数太多，采用更简单的模型就可以了。

9. 加权残差图

加权残差图在评价选定的模型和权重方案时非常有用。基本方法是寻找图中的模式。在分析时，两种模式可能是有问题的证据：图中一边残差比另一边大提示权重方案可能有问题；残差趋向上升或下降，以及呈“U”形或倒“U”形，提示这个模型需要加入一个或两个参数，如图 5 所示。最好的结果是图中没有明显的模式。这种现象表明用于分析的模型和权重方案都很合适。残差散点图更详尽的讨论参见 Draper 和 Smith[40] 的文章。

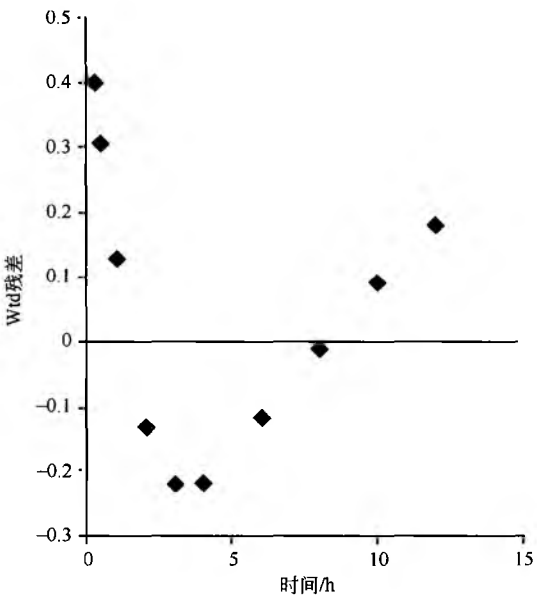


图 5 将两室模型的数据用一室模型拟合时的权重残差与时间图

10. 统计输出

WSS 或其他目标函数是任何非线性回归程序所提供的主

要统计参数。通常分析者是为了寻找最小 WSS 值。然而如果分析时采用了多种权重方案，这种方法就可能误导。例如，观测值大于 1 时，等权重方案下 WSS 值比采用观测值倒数或平方方案对应的 WSS 值大。因此比较 WSS（或 WSS 相关函数）必须在同一个权重方案下进行。一些程序规定使权重之和与数据量相等，这将有利于在权重方案下比较结果，但所有的比较都应该在同样的权重方案下进行。比较相似数据集的 WSS 值有助于确认采样或分析方面的问题。

程序往往提供相关系数 R 和确定系数 R^2。这些指标都表示拟合的接近程度，1 代表完全拟合。多组数据时，相关系数往往都很大（$R>0.9$），即使有的拟合看上去很差。因此分析者不必太过重视这个参数。同样获得高 R^2 值也比较容易。虽然这些参数在非加权线性最小二乘方中广泛使用，但是在加权非线性回归中作用不大。

11. 不同模型的比较

上述的许多输出项对选择“最佳”模型大有裨益。观测值和计算值间曲线的系统偏差可能提示模型需要加入另外的参数。参数 CV 值大（或置信区间宽）可能说明模型参数太多。加权残差图呈现多种模式提示向所选模型中加入其他参数。指导原则是从与数据（和理论）一致的最简单模型开始。随着加入参数的增多，预计 WSS 会减小。问题变为随着另外参数的加入 WSS 显著减小。虽然许多解决该问题的方法是为非加权分析设计的，但也可用在加权非线性回归中。Mandel[41] 和 Boxenbaum 等[42] 建议分析后用两个不同模型（参数数量不同）计算 F 值，如式（24）所示：

$$F(df_j-df_k,df_k)=\frac{WSS_j-WSS_k}{WSS_k}\times\frac{df_k}{df_j-df_k} \quad (24)$$

如果计算得到的 F 值比表中在选定的显著性水平（常为 0.05）下的 F 值高，那么应该使用更详细的模型。另一个普遍使用的参数是 Akaike 信息标准（AIC）值[43,44]。对每个模型都计算 AIC 值，AIC 最小（通常为负值）的模型被认为是较好。AIC 值由数据量（n）、WSS 和参数数量（m）计算得来，如式（25）所示：

$$AIC=n\ln(WSS)+2\times m \quad (25)$$

其他多种研究得出的标准也可能有用。各个标准最好（参数变异性、图形输出、AIC、F 检验等）能互相补充，帮助分析者做出客观的决定。

试验设计

第一阶段建模完成后，分析都可能希望考虑改进试验设计，以检验所选模型或确定模型参数的更可靠的值，从而出现了许多方法。

1. 扩展当前模型的范围

通常要在一个固定的框架内进行一系列试验，然后在这些结果的基础上选定最佳模型，并确定参数。检验模型的一种方法是超出原来试验的范围预测结果。这些预测可以通过在新预测范围内实施更多试验来检验，确定模型对数据的模拟程度。例如，单剂量研究收集和分析的数据很可能符合二室药代动力学模型，而该模型可以通过预测和测量多剂量给药后的药物浓度来检验。有时还可以改变给药途径。

2. 可辨识性和确定合适的取样点

当处理复杂模型时，很容易出现构建的模型太复杂，以致超出了数据允许的问题。例如，一种药物以原形代谢和排泄，如果不测定药物或代谢物在尿中的量，就无法确定排泄或代谢速率常数。如果分析者试图仅通过药物的血浆浓度数据构建一个参数过多的模型，那么不论采集数据的数量有多大和测量的准确性有多高，参数值的不确定性（变异等）都将会非常大。这是一个可辨识性的问题。问题是确定取样点的最小数目或给定的取样点数量是否足以确定提出的模型。有多种方法可以解决这个问题。对于线性、时间不变的系统，采用拉普拉斯变换法非常方便，而泰勒式法更通用[45~47]。Jacquez 等[48,49] 在开发 IDENT 计算机程序时，提出了数值法。另一种方法在取样位点、选定模型和再拟合数据时模拟无偏差的数据。如果估算参数的不确定性过大（使用大量无偏差数据），那么可能出现可辨识性的问题。必须在初始的试验设计阶段确定样本和模型的可辨识性问题，这可以避免大量浪费时间和费用。

3. 确定最佳采样时间以减少参数的不确定性

确定采样点后，下一个问题是在哪些时间点采样。在事先对模型或系统没有任何认识的时候，通常凭直觉或借鉴类似的研究来确定采样时间。由于预期结果有不确定性，通常在宽的时间范围内尽可能多地采集样品。分析初步研究结果后，能更合理地确定最佳采样时间。一些方法可根据选择的模型和最初确定的参数值获得最佳采样时间。ADAPT Ⅱ 程序包的一部分 SAMPLE 程序采用 C-或 D-最优化方法。通常对每个估计参数只有一个最佳的采样时间。许多研究者担心样本数量太少，因而采集了更多的样品。在一定参数值范围内反复使用 SAMPLE 程序计算，可以确定另外的采样时间。这些时间应能提供目标参数的最佳信息。

4. 计算机程序

有许多计算机程序具有数学建模的功能，下文列举了一部分。更全面、更新的程序列表见 http://www.boomer.org/pkin/soft.html。

（1）ADAPT Ⅱ 是用 FORTRAN 代码编写的程序，适用于 VAX VMS、MS DOS 和 SUN UNIX 系统。它能模拟、拟合和优化采样，包括扩展最小二乘方和贝氏优化法。模型可表述为用 FORTRAN 语言编写的积分或微分方程。

（2）BOOMER 是汇编语言程序，适用于 Macintosh 和 MS DOS 系统，可以进行模拟和拟合，包括贝氏优化法。积分或微分方程的模型可以表述为参数序列。

（3）IDENT2 和 IDENT3 是 FORTRAN 源代码

Y

(IDENT2C采用C语言编写)，适用于VAX VMS和其他系统。它用来进行可辨识性分析。

(4) K. Yamaoka和他的同事[44]写的MULTI是BASIC源程序，以手稿形式存在。不同版本包括拟合成积分或微分方程、贝氏分析和扩展最小二乘方。

(5) NONMEM是用FORTRAN源代码编写的，适用于UNIX、IBM和其他计算机，它可以用来对个体或群体数据进行非线性回归。

(6) NPEM是用来计算非参数预期最大值的程序。

(7) SAAM Ⅱ是用汇编语言编写的程序，适用于Windows或Macintosh系统，可以用来进行非线性回归分析。对特定的模型可采用图形界面。

(8) WinNonlin是用汇编语言编写的源程序，适用于Windows系统，能用来进行非线性回归分析。

参考文献

1. Ko, H. C.; Jusko, W. J.; Ebling, W. F. Nonlinear Perpendicular Least-Squares Regression in Pharmacodynamics. Biopharm. Drug Dis. 1997, 18, 711—716.
2. Gibaldi, M.; Perrier, D. Pharmacokinetics 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982.
3. Bourne, D. W. A.; Triggs, E. J.; Eadie, M. J. Pharmacokinetics for the Non-Mathematical; MTP Press Ltd: Lancaster, UK, 1986.
4. Wagner, J. G. Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics; Drug Intelligence Publications: Hamilton, IL, 1971.
5. Wagner, J. G. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist; Technomic Publishing: Lancaster, PA, 1993.
6. Bischoff, K. B. Physiological Pharmacokinetics. Bull. Math. Biol. 1986, 48, 309—322.
7. Sheiner, L. B.; Stanski, D. R.; Vozeh, S.; Miller, R. D.; Ham, J. Simultaneous Modeling of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Application to *d*-tubocurarine. Clin. Pharmacol. Ther. 1979, 2, 358—371.
8. Jusko, W. J. Conceptualization of Drug Distribution to a Hypothetical Pharmacodynamic Effect Compartment. Clin. Pharmacol. Ther. 1993, 54, 112—113.
9. Sharma, A.; Jusko, W. J. Characterization of Four Basic Models of Indirect Pharmacodynamic Responses. J. Pharmacokin. Biopharm. 1996, 24, 611—635.
10. Sharma, A.; Ebling, W. F.; Jusko, W. J. Precursor-Dependent Indirect Pharmacodynamic Response Model for Tolerance and Rebound Phenomena. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 1577—1584.
11. Carstensen, J. T. Drug Stability: Principles and Practice; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990.
12. Wagner, J. G. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics; Drug Intelligence Publications; Hamilton, IL, 1975; 35.
13. Gerald, C. P.; Wheatley, P. O. Applied Numerical Analysis, 4th Eds.; Addison-Wesley: Reading, MA, 1990.
14. Boas, M. L. Mathematical Methods in the Physical Sciences, 2nd Ed.; Wiley: New York, 1983.
15. Mayersohn, M.; Gibaldi, M. Mathematical Methods in Pharmacokinetics. I. Use of the Laplace Transform for Solving Differential Rate Equations. Am. J. Pharm. Ed. 1970, 34, 608—614.
16. Mayersohn, M.; Gibaldi, M. Mathematical Methods in Pharmacokinetics. II. Solution of the Two Compartment Open Model. Am. J. Pharm. Ed. 1971, 35, 19—28.
17. Benet, L. Z.; Turi, J. S. Use of General Partial Fraction Theorem for Obtaining Inverse Laplace Transforms in Pharmacokinetic Analysis. J. Pharm. Sci. 1971, 60, 1593—1594.
18. Benet, L. Z. General Treatment of Linear Mammillary Models with Elimination from Any Compartment as Used in Pharmacokinetics. J. Pharm. Sci. 1972, 61, 536—541.
19. Yano, Y.; Yamaoka, K.; Tanaka, H. A Nonlinear Least Squares Program, MULTI (FILT), Based on Fast Inverse Laplace Transform for Microcomputers. Chem. Pharm. Bull. 1989, 37, 1035—1038.
20. Fehlberg, E. Low-Order Classical Runge-Kutta Formulas with Stepsize Control and Their Application to Some Heat Transfer Problems; NASA TR R-315; NASA Tech. Report: 1969.
21. Watt, H. A.; Shampine, L. F. Subroutine RKF45. Computer Methods for Mathematical Computation; Forsythe, G. E., Malcolm, M. A., Moler, C. B., Eds.; Prentice-Hall: Englewood, NJ, 1977, 133—147.
22. Press, W. H.; Teukolsky, S. A.; Vetterling, W. T.; Flannery, B. P. Numerical Recipes in FORTRAN; 2nd Ed. Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1992; 741.
23. Gear, C. W. DIFSUB for Solution of Ordinary Differential Equations. Algorithm 407. Collected Algorithms. Communications of the Association for Computer Machinery (CACM): New York, 1971.
24. Gear, C. W. The Automatic Integration of Ordinary Differential Equations, Communications of the Association for Computer Machinery (CACM): New York, 1971; 14, 176—179.
25. Sedman, A. J.; Wagner, J. G. CSTRIP, A FORTRAN IV Computer Program for Obtaining Initial Polyexponential Parameter Estimates. J. Pharm. Sci. 1976, 65, 1006—1010.
26. Brown, R. D.; Manno, J. E. ESTRIP, A BASIC Computer Program for Obtaining Initial Polyexponential Parameter Estimates. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 1687—1691.

27. Wagner, J. G.; Nelson, E. Kinetic Analysis of Blood Levels and Urinary Excretion in the Absorptive Phase after Single Doses of Drug. J. Pharm. Sci. 1964, 53, 1392—1403.
28. Loo, J. C. K.; Riegelman, S. New Method for Calculating the Intrinsic Absorption Rate of Drugs. J. Pharm. Sci. 1968, 57, 918—928.
29. Kiwada, H.; Morita, K.; Hayashi, M.; Awazu, S.; Hanano, M. A New Numerical Calculation Method for Deconvolution in Linear Compartmental Analysis of Pharmacokinetics. Chem. Pharm. Bull. 1977, 25, 1312—1318.
30. Vaughan, D. P.; Dennis, M. Mathematical Basis of PointArea Deconvolution Method for Determining In Vivo Input Functions. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 663—665.
31. Cutler, D. J. Numerical Deconvolution by Least Squares: Use of Prescribed Input Functions. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1978, 6, 227—241.
32. Hartley, H. O. The Modified Gauss-Newton Method for the Fitting of Non-Linear Regression Functions by Least Squares. Technometrics 1961, 3, 269—280.
33. Marquardt, D. W. An Algorithm for Least-Squares Estimation of Non-Linear Parameters. J. Soc. Indust. Appl. Math. 1963, 11, 431—441.
34. Nelder, J. A.; Mead, R. A Simplex Method for Function Optimization. Comput. J. 1965, 7, 308—313.
35. Wagner, J. G. Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics; Drug Intelligence Publications: Hamilton IL, 1975, 289.
36. Peck, C. C. Computer-Assisted Clinical Pharmacokinetics. Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment; Benet, L. Z., Massoud, N., Gambertoglio, J. G. Eds.; Raven Press: New York, 1984, 353—354.
37. Peck, C. C.; Sheiner, L. B.; Nichols, A. I. The Problem of Choosing Weights in Nonlinear Regression Analysis of Pharmacokinetic Data. Drug Metab. Rev. 1984, 15, 133—148.
38. Peck, C. C.; Beal, S. L.; Sheiner, L. B.; Nichols, A. I. Extended Least Squares Nonlinear Regression: A Possible Solution to the Choice of Weights Problem in Analysis of Individual Pharmacokinetic Data. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1984, 12, 545—558.
39. Schumitzky, A. Nonparametric EM Algorithms for Estimating Prior Distributions. App. Math. Comput. 1991, 45, 143—157.
40. Draper, N. R.; Smith, H. Applied Regression; Wiley: New York, 1966.
41. Mandel, J. The Statistical Analysis of Experimental Data; Interscience: New York, 1964; 164.
42. Boxenbaum, H. G.; Riegelman, S.; Elashoff, R. M. Statistical Estimation in Pharmacokinetics. J. Pharmacokin. Biopharm. 1974, 2, 123—148.
43. Akaike, H. A New Look at the Statistical Model Identification. IEEE Trans. Automat. Control. 1973, 19, 716—723.
44. Yamaoka, K.; Nakagawa, T.; Uno, T. Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the Evaluation of Linear Pharmacokinetic Equations. J. Pharmacokin. Biopharm. 1978, 6, 165—175.
45. Brown, R. F.; Godfrey, K. R. Problems of Determinacy in Compartmental Modeling with Application to Bilirubin Kinetics. Math. Biosci. 1978, 40, 205—224.
46. Godfrey, K. R.; Fitch, W. R. The Deterministic Identifiability of Nonlinear Pharmacokinetic Models. J. Pharmacokin. Biopharm. 1984, 12, 177—191.
47. Wang, Y.-M. C.; Reuning, R. H. An Experimental Design Strategy for Quantitating Complex Experimental Models: Enterohepatic Circulation with Time-Varying Gallbladder Emptying as an Example. Pharm. Res. 1992, 9, 169—177.
48. Jacquez, J. A. Identifiability: The First Step in Parameter Estimation. Fed. Proc. 1987, 46, 2477—2480.
49. Jacquez, J. A.; Perry, T. Parameter Estimation: Local Identifiability of Parameters. Am. J. Physiol. 1990, 258, E727—E736.
50. See http: //www. boomer. org/pkin/book. html for a more complete and up-to-date list.
51. Bourne, D. W. A. Mathematical Modeling of Pharmacokinetic Data; Technomic Publishing: Lancaster, PA, 1995.
52. Carstensen, J. T. Modeling and Data Treatment in the Pharmaceutical Sciences; Technomic Publishing: Lancaster, PA, 1996.
53. Draper, N. R.; Smith, H. Applied Regression Analysis; Wiley: New York, 1966.
54. Gerald, C. F.; Wheatley, P. O. Applied Numerical Analysis, 4th Ed.; Addison-Wesley: Reading, MA, 1990.
55. Gibaldi, M.; Perrier, D. Pharmacokinetics, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982.
56. Mandell, J. The Statistical Analysis of Experimental Data; Interscience: New York, 1964.
57. Sadler, D. R. Numerical Methods for Nonlinear Regression; Queensland Press: St. Lucia, Australia, 1975.
58. Wagner, J. G. Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics; Drug Intelligence Publications: Hamilton, IL, 1971.
59. Wagner, J. G. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist; Technomic Publishing: Lancaster, PA, 1993.

（丁存刚 译）

Y

药学中的单元过程操作

Anthony J. Hickey
University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, U. S. A.
David Ganderton
Vectura Ltd., Bath, United Kingdom

引言

单元操作的原理在本书其他章节有详细描述[1,2]，以下是主要操作的概要。虽然其范围很广，但本章已经进行了选择性省略。我们给出了参考文献，这样可以尽量弥补本文的不足。

蒸发和蒸馏

1. 蒸发

在制药工业中，蒸发主要是在批生产中通过沸腾来除去水和其他溶剂的一种方法。

1.1 蒸发时通过热传导来煮沸液体

蒸发时沸腾液体所需要的热量通常是从热液体如水蒸气或热水通过夹套壁或盘管进行传递的。我们用方程（1）来定性讨论获得高速热流的方法。

$$Q = UA\Delta T \tag{1}$$

式中：Q 为热流速度；U 为总传热系数；A 为传热面积；ΔT 为流体间的温差。

方程（1）描述的其他因素是传热表面积的大小及受热面和沸腾液体间的温度差，前者要尽可能大。只要没有超过临界热流，后者也应大一些。

1.2 溶液和流体的物理性质

许多相互联系的物理因素都与研究蒸发相关。对于一种热流体，蒸发器壁两侧的温度差是由沸腾温度决定的，可以通过改变外部压力和溶质在溶剂中的浓度来调节。沸腾温度和溶质浓度都能影响溶液黏度，该参数会极大地影响热传导系数。沸腾温度也决定所溶组分的溶解度和浓缩的程度（没有固体析出）。

加热对于溶液中活性组分的影响：溶液中各组分的热稳定性决定了所使用的蒸发器的类型及操作条件。如果简单溶液中含有易水解材料，或者蒸发时其降解速度与浓度密切相关，那么剩余分数 F 与时间 t 就存在指数关系，具有一级反应特征，如方程（2）所示：

$$F = e^{-kt} \tag{2}$$

反应速率常数 k 和绝对温度 T 的关系见方程（3）：

$$k = Ae^{-B/T} \tag{3}$$

式中：A、B 是反应的特征常数。因此，在温度 T_1、T_2、T_3 时，若温度 $T_1 > T_2 > T_3$ 时，剩余分数和加热时间之间的关系见图 1。它清楚地表明了温度和加热时间的重要性。如果缩短加热时间，蒸发温度就可大幅增加，而不会增加降解程度。因此，如果已知温度对蒸发速度的影响，就能够确定加热时间和加热温度，以确保最小程度的降解。

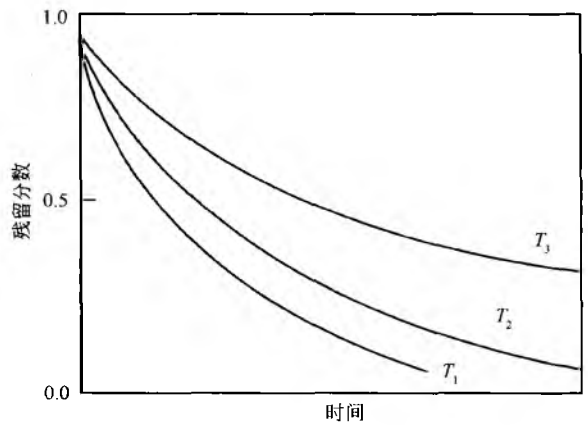


图 1 时间和温度对降解的影响

实际操作中，降解动力学、蒸发速度和温度之间的关系通常是未知的。若判断标准是产品的颜色、味道或气味时，这一点尤其突出。此外，该分析忽略了蒸发时温度的改变及在高温界膜处的降解。因此，实验时必须确定蒸发工艺的适用性。

在批生产中，要明确规定加热的时间。在连续生产中，若所蒸发的液体只通过加热器一次，这一点同样重要；而当液体循环通过加热器时，这时通过比值可算出平均滞留时间 a。

体积改变只是表明由于长时间加热而发生了损坏。如果蒸发器中混合得非常均匀，那么可通过方程 4 得到分数 f，它的单位与时间 t 相同或更小：

$$f = 1 - e^{-t/a} \tag{4}$$

以上关系表明，蒸发器在平均滞留时间为 1h 时，可以保留 13.5%的有效成分 2h，2%的有效成分 4h。

2. 蒸发器

通常可以方便地将蒸发器分为自然循环型、强制循环型和薄膜型。

2.1 自然循环型蒸发器

小型蒸发器有一个简单的容器盘，通过夹套或线圈加热，或同时具有两种方式加热。通向夹套的热流使容器中的液体沸腾。超小型的蒸发器可以是开放的，蒸气直接排到大气中或进入通风橱。较大的蒸发器是封闭的，通过管子排放蒸气。小型夹套盘很实用，易于清洗，适用于热不稳定原料的真空蒸发。但是，随着容量的增加，加热面积和体积的比下降，所以它的体积有限。大型的容器必须使用加热螺旋管，可以提高其蒸发能力，但也会加大清洗难度。

2.2 强制循环型蒸发器

最小的强制循环型蒸发器与前面所提到的盘形蒸发器形似，仅仅增加了一个搅拌器。强力搅拌可以增加沸腾膜系数，而增加程度则取决于搅拌器的类型和速度。搅拌器常用于黏稠物料的蒸发，用以防止物料在加热面的降解。一些大型连续单元与上述的自然循环蒸发器相似。

2.3 薄膜蒸发器

在加热器的短管中，最初混合的蒸气和液体在顶端排出，见图 2（a）。如果显著增加导管的长度，在高速蒸气核形成并推动液体的环形膜在导管中流动之前，可以实现渐进的相分离。这种现象是液体和气体同时通过导管的阶段性流动，用于薄膜蒸发器中。膜的湍流可以产生很高的热传递系数，并且气泡和形成的蒸气能快速地排放到蒸气中。虽然可以采用再循环法，但是在长管中通过一次也能充分地浓缩液体而实现高效蒸发。因为滞留时间很短，极不耐热的物料也可以在较高的温度下浓缩。薄膜蒸发器也适用于能产生强泡沫的物料。虽然已经开发出很多不同型号的产品，但是所有产品在操作中都基本是连续的，产能从每小时几升到更多。

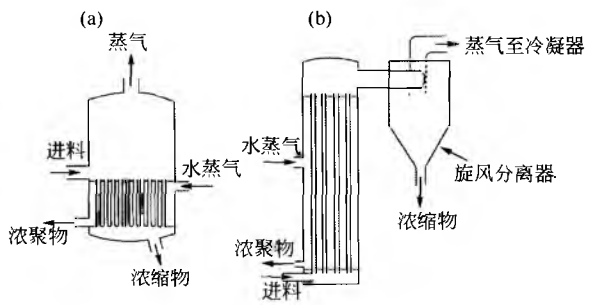


图 2（a）带加热器的蒸发器；（b）升膜蒸发器

升膜蒸发器是最普通的薄膜蒸发器，有 15～30 英尺（4.3～13.6m）长、直径为 1～2 英寸（2.5～5cm）的管子，安装在蒸气室中［图 2（b）］。料液从管子底部进入，在沸腾前向上流一小段距离。这一段液体的热传导系数很低，但可以通过预加热料液至沸点的方法使影响降到最低。沸腾后进行相分离，气液混合物通过隔板或旋流分离器在导管的顶部分离。升膜式蒸发器并不适用于蒸发黏稠液体。

在降膜式蒸发器中，液体输送至很多长的加热管上部。由于重力的作用使液体沿着管子向下流动，这种方式有助于蒸发中等黏度的液体。产生的蒸气通常向下移动，气液混合物在底部进行分离。在供液时，必须保证液体均匀分布。一些管子中的液体的过多分布将导致另一些导管变干。

升降膜式蒸发器可以在升膜段浓缩液体，将气液混合物送入形成降膜蒸发器的第二部分管子。降膜段液体的分布要均匀，这对于蒸发时黏度明显增加的液体尤为适用。

在有机械辅助的薄膜蒸发器中，不管黏度如何，物料薄膜都保持在热传导表面上。通过一个具桨的与管同心的转子刮管子或接近膜旋转，通常可以达到上述效果。机械搅拌能蒸发高黏度或低热导率的物料。由于膜中温度的变化减小，保留时间缩短，能够真空蒸发黏稠的热不稳定原料。

2.4 非沸腾蒸发

加热时，在沸腾前液体表面就发生蒸发。同样，高黏度或含有大量泡沫的液体可以在不沸腾的情况下进行浓缩。蒸气的表面扩散用方程（5）描述。

$$N_A = k_g RT(P_{Ai} - P_{Ag}) \tag{5}$$

式中：N_A 表示单位时间单位面积下蒸发的摩尔数；k_g 表示界边层的质量传递系数；R 为摩尔气体常量；T 为热力学温度；P_{Ai} 表示液体蒸气压；P_{Ag} 表示蒸气在气体中的分压；k_g 与气体速度成正比。

3. 蒸馏

蒸馏是通过气化使液体混合物分成它的各个组成部分的过程。通常，混合液沸腾时，挥发性组分在蒸气中的含量比其在液体中的高。蒸馏就是以此为依据的。虽然蒸馏工艺中最常见的是多组分混合物，但对该操作的理解可以基于两组分或二元混合物的蒸气压特征。

3.1 不相混溶的二元混合液体：蒸气蒸馏

如果二元混合组分是不相混溶的，那么混合物的蒸气是两组分的蒸气压之和，每个组分都是独立的，与液体中的相对浓度无关。蒸气蒸馏正是利用这种性质，特别适用于从不挥发的杂质中分离高沸点的物质。蒸气形成了一种廉价的惰性载体。该操作的原理同样适用于其他不相混溶的体系中。

蒸馏物的组成计算如下：对于两个组分 A 和 B，总的蒸气压 P 为各组分蒸气压 P_A 和 P_B 之和。因为气体混合物中各组分的分压与该组分的摩尔浓度成正比，蒸气的组成见方程（6）：

$$\frac{n_A}{n_B} = \frac{P_A}{P_B} \tag{6}$$

式中：n_A 和 n_B 为蒸气中 A 和 B 各自的摩尔数。如果 W_A 和 W_B 分别为蒸气中 A 和 B 的质量，则得出方程（7）：

$$\frac{W_A}{M_A} \times \frac{M_B}{W_B} = \frac{P_A}{P_B} \tag{7}$$

Y

M_A 和 M_B 为相应的摩尔质量。从蒸气中所得到的蒸馏产物为 W_A+W_B，由方程（8）可以算出蒸馏产物中 A 的百分含量。

$$\frac{W_A}{W_A+W_B}\times 100=\frac{P_AM_A}{P_AM_A+P_BW_B}\times 100 \quad (8)$$

蒸馏时如果与水不混溶的有机液体有较高的相对分子质量或较高的蒸气压，那么蒸馏物中它与水的比例是增加的。当物料的热稳定性要求蒸馏的温度低于 100℃时，可在真空条件下进行水蒸气蒸馏。

蒸气压与混合物组成的关系：在可完全互溶的二元混合物中，混合物的蒸气压与混合物组成及两纯组分的蒸气压有关。如果是理想液体，蒸气压与组成的关系可由拉乌尔定律得出。温度恒定时，理想混合物中某组分的分压与其在液体中的摩尔分数成正比。因此，对于由 A 与 B 组成的混合物，由方程（9）可得 A 的分压：

$$P_A=P_A^0\cdot\chi_A \quad (9)$$

式中：P_A^0 为纯 A 的蒸气压；χ_A 为 A 的摩尔分数。同样，由方程（10）得出 B 的分压：

$$P_B=P_B^0\cdot\chi_B \quad (10)$$

系统的总压力 P 等于 P_A+P_B。

能够严格遵循拉乌尔定律的液体混合物很少。因此，蒸气压值必须通过实验来测定。正偏离拉乌尔定律的混合物总蒸气压曲线，位于理论直线上方。负偏离的位于下方。极端情况下，偏离非常大，混合比例在一定范围内的混合物的蒸气压比任一组分的蒸气压都大或都小。

对于理想体系，蒸气中某组分的分压与其摩尔分数成正比，对于组分 A 如方程（11）所示，

$$P_A=y_AP \quad (11)$$

P_A 为蒸气中 A 的分压，y_A 为 A 的摩尔分数。由于 $P_A=P_A^0\cdot\chi_A$，可得方程（12）和（13），

$$y_A=\frac{\chi_AP_A^0}{P} \quad (12)$$

同样，

$$y_B=\frac{\chi_BP_B^0}{P} \quad (13)$$

如果组分 A 更容易挥发，则 P_A^0 大于 P。由于在平衡状态下，易挥发组分将产生更多的蒸气，因此，y_A 大于 χ_A。

形成最低共沸混合物体系是很普遍的。例如乙醇和水，在共沸混合物中包含 4.5% 的水。常压下，沸点为 78.15℃，比纯乙醇的沸点低 0.25℃。最高共沸混合物不常见。最熟悉的例子是氢氯酸，在 108.6℃形成共沸混合物，此时包含 20.2%的氢氯酸。通过普通的蒸馏方法并不能把共沸混合物完全分离。但是，单纯的分离出一种纯物质是可能的。

3.2 简单蒸馏或微分蒸馏

在简单或微分蒸馏中，由沸腾混合物所产生的蒸气会被立即排出并浓缩。除非两组分的沸点差别较大，否则这两种组分就不可能有理想的分离度。这种方法可以用于从水溶液中清除低沸点的溶剂。

3.3 精馏或分馏

在简单蒸馏中，蒸气很少浓缩。分馏也叫精馏，即沸腾液体所产生的蒸气在沿纵向柱中上行与上段柱中的液流或部分浓缩回流液相遇的过程。经过一系列的浓缩和蒸发，在消耗回流液的同时，上行蒸气含有更多的挥发性组分，能够达到高度分离的目的。分馏柱分为两个基础部分：填充柱和塔板柱。

填充柱：用于实验室和小规模的工业分馏，通常进行分批操作。柱由垂直中空的圆柱状外壳组成，柱中填有填料，用来给液体和蒸气提供大的接触面积。除了填充圈以外填料的类型多种多样，由金属或陶瓷小圆柱体组成的是最为常用的。通常填充柱可以在各种条件下起到分馏作用而分馏效果没有明显的差异。

塔板柱：塔板柱包含一系列的塔板或托盘，当液体经过柱子的时候会在它们上面保留一段时间。上升的蒸气通过液体的时候会起泡，使两相紧密接触。回流液通常由降液管带动在塔板间向下移动。蒸气和液体间的接触就发生在此阶段。

塔板柱使用范围有限。它主要用于蒸馏条件恒定的大型连续装置中。

3.4 分子蒸馏

分子蒸馏不发生沸腾，是在低至约 0.001mmHg（0.133Pa）的压力下进行的。在这个压力下，蒸气中的以及反射回液体表面的分子碰撞会大大降低，分子的平均自由程与蒸发表面和近处的冷凝器之间的距离相当。虽然分离度不会超过一个理论塔板，但是它能够蒸馏高沸点的液体。因此，此方法主要用于在高沸点介质中浓集不挥发的组分。在鱼肝油中浓缩维生素就使用这种方法。对于易挥发液体的分离，必须有几个分馏阶段。

因为没有沸腾所以起不到搅拌的作用，因此必须采取其他方法使易挥发组分维持在蒸发表面。工业中所采用的方法见图 3，从加热的圆锥形转筒底部加料，在离心力的作用下，以薄液层的形式向上移动。剩余的液体则留在顶部的沟槽中。蒸气在一小段用水冷却的同心冷凝器中浓缩并排出。

空调和增湿

在制药工艺中供应空气的一般原则同常规的空气调节相似，但是，对于其质量的控制更加严格一些。例如，在无菌原料的生产和处理区域，清洁时必须将细菌去除掉。在其他条件下，还必须去除水蒸气。粉末的流动性对于湿度很敏感，并且物料的平衡含水量由湿度决定。如果湿度过高，有些压片过程则不能进行。在那种情况下，空调的等级是可变的。有时必须向整个房间提供某种质量的空气。

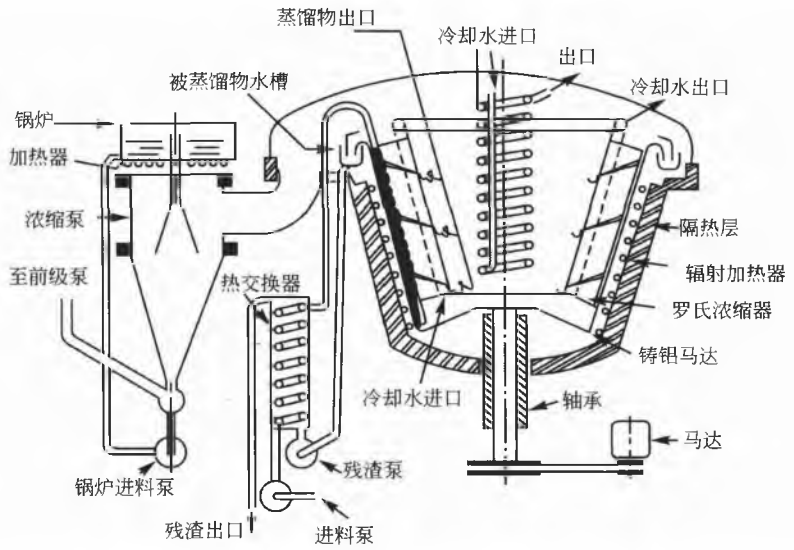


图 3　大规模的分子蒸馏器[3]

换句话说，调节往往局限于某设备周围的一小块空间中。

1. 蒸气和气体的混合物

关于空气和水蒸气混合物性质的研究叫做湿度测定学，所得各种数据用多种形式的湿度图来表示。图 4 中，湿度为纵坐标，温度为横坐标。相对湿度以曲线的形式贯穿整个图表。关于这条曲线的应用将在后面说明。

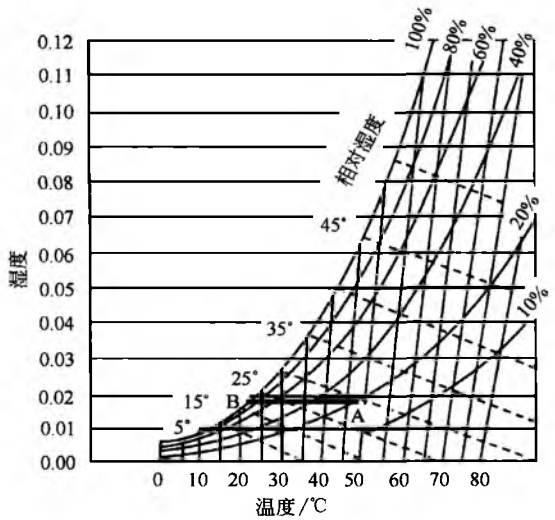


图 4　湿度计算表

2. 湿度测定——湿度的测定方法

应用质量分析法来准确测定空气的湿度。用适当的化学试剂吸收已知体积空气中的水蒸气并称重。在简便的方法中，湿度由水气混合物的露点或干湿球温差的测定得到。

在恒压下，水蒸气冷凝时的温度叫做露点。在图 4 中，如果 A 点表示空气冷却时的状态，那么相对湿度将会升高，直到混合物完全饱和。此状态用 B 点表示；温度协调器与露点相对应，通过在一银球中蒸发乙醚，可以快速地测定露点。记下周围空气凝结成露的温度，湿度则可以从湿度表中直接读取。

从干湿球温差中推导出湿度需要预先研究空气与水界面质量和热量的转移。空气和湿球间的温差就是干湿球温差。如果用 T_a 和 T_{wb} 表示这些温度，热导率为 Q，则得到方程（14）和（15），

$$Q = hA(T_a - T_{wb}) \tag{14}$$

$$Q = \rho k_g A(H_i - H_a) \tag{15}$$

由方程（14）和（15）可以得到方程（16）。

$$H_i - H_a = \frac{h}{\rho k_g \lambda}(T_a - T_{wb}) \tag{16}$$

热传递系数和质量传递系数都是空气流速的函数。但是，当空气流速大于 15ft/s（4.5m/s）时，h 与 k_g 的比值大约是常数。干湿球温差直接与表面湿度和空气湿度差成比例。在干球和湿球湿度计中，干湿球温差通过两个温度计来测量，这种温度计中装有用水浸湿的纤维套管。这两个温度计并排装好，并且要有防护避免热辐射。在上述方程推导中，辐射作用是被忽略的。空气通过一个小风扇经过温度计。用干湿球温差和湿度表推算湿度将在以后讨论。

在湿球中许多湿球和干球湿度计是在没有任何空气流动的情况下使用的。这可以通过另一种气-水体系来解释。如果有限的空气和水可以在一个既不吸热又不放热的体系中达到平衡，那么空气将会饱和，蒸发所需的潜热将从冷却到相同温度的流体中获得。这一温度 T_∞ 为绝热饱和温度。绝热饱和温度等于湿球温度是这一体系的特性。在此温度下，如果体系中的水是可以再循环的，那么进来的空气将会被冷却，直到绝热饱和温度。另外，水的温度保持不变，并且所有蒸发所需的潜热都从空气显热中获得。平

衡状态通过方程（17）表示，

$$(T_a - T_\infty)S = (H_\infty - H_a)\lambda \quad (17)$$

式中：T_a 表示进入空气的温度；S 表示它的比热；H_a 和 H_∞ 分别表示进入空气和饱和空气的湿度；λ 为水蒸发所需的潜热。

当确定湿球和干球温度后，湿度可采用下述方法从湿度表上读取。首先确定在饱和曲线上与湿球温度相对应的点。然后以内插值替换绝热冷却线，并沿着绝热冷却线直到干球温度所对应的点为止。从另外一个坐标轴可以读出湿度。

3. 增湿和除湿

通常，通过喷水可以使空气增湿。少量空气中的水蒸气可以通过填有氧化铝或硅胶的柱子吸附除去。这些材料都是成对装填的，以便当一个再生时另一个可以使用。另外，空气可以冷却到露点以下，使过量的水蒸气冷凝或对水蒸气饱和的低温空气再加热。

结晶

结晶作用指从多成分的液相中形成固态单一成分晶相的过程。结晶的重要性主要在于在此过程中实现纯化以及产物的物理性质。结晶粉末处理方便、稳定，并且流动性好、美观。

从水蒸气中结晶，这是自然存在的，例如，冰霜的形成。它被用于升华过程以及冷冻干燥时水蒸气的冷凝。

1. 熔融物的结晶

熔融物指单一物质形成的液态或两种或两种以上物质形成的冷却时会固化的均一液体。这种体系中，结晶包含以下过程：过冷化、成核、结晶生长。

如果冷却单一组分的液体，那么在结晶核形成和长大之前，必须达到某种程度的、通常是高度的过冷化状态。亚稳态液体存在于熔点以下只有冷却才能达到的亚稳态。在此亚稳态过冷区域，由于不能形成晶核，所以阻止了晶体的形成和生长。但是，如果加入晶种，它就能长大。在亚稳态中引入晶种的方法通常用于工业结晶。随着进一步冷却，晶核可以自发形成，并且能够释放结晶热升高熔融物的温度，进而达到真正的熔点。

2. 晶核形成

在某些单组分体系中，例如胡椒碱，晶核形成和晶体生长是独立的，并且能够分别进行研究。成核速度是过冷作用的函数，通过在给定温度下保持熔融状态一段时间，然后快速升高温度到亚稳态区域来研究。在此区域新的成核作用可忽略不计，但是已经形成的晶核能够继续生长。

当有足够的低动能分子集合在一起，它们之间的引力足以克服其动量时，就会自发地形成晶核。

3. 结晶生长

如果晶核形成和结晶生长是各自分开的，那么后者就可以在很少或没有自然成核的条件下通过引入晶种来进行研究。测定生长速度。我们可以通过分子动力学解释晶体生长曲线。当温度刚好低于熔点温度时，分子的能量很大，以至于不能维持在晶格中。随着温度的降低，有更多的分子留下，晶体生长速度加快。但是，最终扩散到结晶表面并在此定位的过程将被抑制。

对于单组分熔融物的晶体生长来说，在晶体表面的分子必须在晶格中到达正确的位置，并且要有合适的取向，损失动能。这些能量的变化表现为结晶热，结晶热必须从晶体表面转移到大量的熔融物当中去。热传递速度和表面的变化会影响晶体生长速度。搅拌可以减少邻近晶体的液体层的热阻从而增加热传递，直到晶体表面的改变见效。

在多组分的熔融物和溶液中，物料在晶体表面的沉积减少了邻近的液体层，并且在饱和的表面与过饱和的液体之间形成浓度梯度。在下一节将讨论分子向结晶表面的扩散。

4. 溶液中的结晶作用

晶体生长过程中，高度的过饱和状态可以促使晶体生长加快。晶体表面的溶质分子在晶格中适当定向，这抑制了晶体的生长。同时，结晶热必须被传走。

在给定温度和饱和度的条件下，搅拌能改变结晶生长速度。最初，搅拌能通过降低界面层和扩散层厚度加快晶体的生长。但是，随着搅拌的加剧，由于表面反应动力学的作用，搅拌所能达到的效果有限。

随着熔融的进行，溶质中的杂质可能加快或者减慢成核速度。不溶性物质可作为晶核，促进结晶。杂质也可以影响晶体的形成，在某些情况下，故意加入一些杂质以确保产物具有良好的外观、不结块并具有适当的流动性。

5. 结晶器

虽然可以采用其他方法，但是一种相同方式可方便地将结晶器分类，那就是溶液是否过饱和。这就引出了冷却结晶器和蒸发结晶器这两个毋须解释的名词。在真空结晶器中，兼有蒸发和冷冻过程。

过滤

过滤指通过可透过的介质除去液体或气体中的固体混悬物的过程，固体被介质所截留。可透过的介质或隔膜由基底支持，再配以合适的容器，该容器应有孔道使流体进出隔膜，这样就构成了滤器。

1. 方法

1.1 净化

注射液的净化去除了含量很低的有害固体杂质。净化可以采用浓稠的介质，应用渗透法，通过截取、碰撞和静电效应截获粒子。这个过程又叫深层过滤，在此过程中被去除的粒子可能比滤过介质小几百倍。这种过滤并不是无条件的，必须设计得足够深，以便使最小的粒子也不能通过滤器。

深层过滤在本质上与介质过滤是不同的，介质过滤中孔径的大小决定了所截留粒子的粒径。当粒子直径与滤孔大小相差不大时，这种过滤器可以被称为“绝对”过滤，以至于可通过滤器的粒子和被截留粒子的粒径有相对显著的差别。这与筛分的机理相类似。这种过滤器的使用寿命取决于能够过滤液体的有效孔径的数量。一旦粒子在孔道的入口处被截留，孔道对剩余流体的通过量将大大降低。金属网粗滤及膜滤过都采用此机理。通过过滤对液体灭菌可以看作是过滤的极致，在此过程中，必须保证大小为0.3μm的粒子能被完全清除。

1.2 滤饼过滤

工业上最普遍的应用是泥浆过滤，泥浆中包含数量相当大的固体混悬物，通常有3%～20%。在此过程中，隔膜仅仅是作为一种支撑物，真正起作用的是沉积在上面的固体滤饼。在这种情况下，在沉积形成有效的滤饼之前，固体沉积物将完全地渗透并穿过隔膜。直到这时，絮状滤液才可以再利用。滤饼的物理性质在很大程度上决定了使用的方法。该方法常包括洗涤、部分干燥或脱水几个主要部分。最后有效地取出滤饼。得到我们想要的或是固体，或是滤液，或是全部。

2. 过滤的原理

过滤理论有两个重要方面。一是流体通过多孔介质的理论，对于净化和滤饼过滤均适用。二是粒子在深层滤器中的截留作用，仅在净化作用中非常重要。

流体通过多孔介质

水力直径孔道的概念相当于粉末床中的复合间隙网，由此得到方程（18），

$$Q=\frac{KA\Delta P}{\eta L} \tag{18}$$

式中：Q表示体积流量；A表示滤床面积；L表示滤床厚度；ΔP为压力差；η为流体黏度。渗透系数K可表示为

$$\frac{\varepsilon^3}{5(1-\varepsilon)^2 S_0^2}$$

ε表示滤床孔隙率，S_0表示它的比表面积（cm^2/cm^3）。

在净化过程中，高透过性和过滤速度不利于粒子的截留。由烧结物或疏松物作为净化介质，能准确控制粒径、比表面积和孔隙率，并且介质能将透过性和截留性完美地结合起来。透过性分析可应用于此系统。由于过于锐利，净化时并不使用纤维状介质。如今开发一种同时拥有高透过性和高截留能力的材料已成为可能。但是这种材料本身很不牢固，必须有坚固的支撑。

深层过滤器净化理论的数学表达见Ives[4,5]及Maroudas和Eisenklam[6]的研究工作。

3. 过滤器

根据滤液通过过滤器的介质和滤饼的方式，过滤器可分为：

- 重力过滤器
- 真空过滤器
- 压力过滤器

虽然每组滤器都可进一步细分为连续或分批操作，但是由于技术上的限制，连续压力过滤器并未普及且价格昂贵。离心分离是另一种除去滤液的方法。详见文献[7,8]。

许多小型过滤器仅由固定的刚性介质组成，它能耐少许压力，并配有适当的外壳。真空操作的过滤器通常用于需深层过滤的净化。过滤介质由烧结金属、陶瓷、塑料或玻璃组成。过滤器可由分级精密的烧结化学粉末制成，在生产规模中这种滤器适用于溶液的无菌过滤。

4. 过滤介质

滤饼过滤中，介质必须控制透过性，并且要与滤饼结合得很好，以便产生高渗透性。在洗净和脱水后，介质应该能使滤饼自由地脱离。

4.1 刚性介质

刚性介质可以是松散的也可以是固定的。前者如在适当的支撑物上助滤剂的沉积。滤过性能主要由粒径、粒径分布和形状决定的，这在以前描述过。这些因素随不同的过滤要求而改变。

固定的介质不同于穿孔金属，穿孔金属通常用于细小粒子的粗滤，多由金属、陶瓷、塑料或玻璃粉末烧结而成。粒径、粒径分布和粉末形状同烧结条件一起控制着最终产品的孔隙大小和分布。依据方程（18）中的系数可以评价透过性。此外，介质可以用空气透过性来表征。最大孔径，在无菌过滤器的选择中是一个很重要的参数，它是通过当介质承载已知表面张力液体时，测量透过介质鼓一空气泡所需的压力差来决定的。

4.2 柔性介质

柔性介质可以是编织品也可以不是编织品。过滤介质，如棉花、羊毛、人造或再生纤维、玻璃或金属纤维的编织物，常用作滤饼过滤的隔层。棉花是应用最广的天然纤维，尼龙也在合成纤维中占主导地位。涤纶可作为酸性过滤的介质。纤维的缠绕和折叠以及像帆布和斜纹布这样不同编织物的使用都可以影响透过性和滤饼的取出。编织物的选

择通常取决于过滤物的化学性质。

由毛毡和压缩纤维浆组成的非编织品介质，通常用于需深层过滤的净化。除非制备时非常小心，否则在过滤器的下面会损失很多纤维材料，这是非编织品介质的一个缺点。片状介质的应用已经讨论过。通过树脂渗透，纸片具有高的湿强度。另一种方法是在纤维结构中采用石棉纤维。

4.3 空气滤过机理

通过对不同障碍物周围悬浮粒子流动的研究，在 20 世纪 30 年代早期就已提出纤维介质的空气过滤理论基础。对烟的过滤研究表明[9,10]，虽然下列因素的相对重要性随着过滤器类型和操作条件的变化而变化，但是当粒子通过过滤器而被捕获时，它们是同时发生的。

- 由布朗运动所引起的扩散作用
- 粒子与纤维之间的静电吸引
- 纤维对粒子的直接拦截
- 在惯性的作用下粒子与纤维碰撞而截留
- 沉降和重力作用

空气过滤器是在气流通过圆柱状纤维形成的直线流动的条件下工作的。如果粒子在纤维周围运动时有任何接触，那么就可以假设有粒子被捕获。一旦被捕获，粒子就不能再回到气流中，在滤床中沉积较深。通过应用白色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌[11]孢子的雾化悬浮液可以支持上述假设。然而，一些纤维过滤器用黏性油处理，大概是用来更有效地捕获粒子并防止粒子被气流再带走。

粒子在线性流动时发生偏离的方式有多种[10,12]。当粒子在纤维周围的时间较长时，如果布朗运动引起粒子在层流中明显的迁移，那么就可以增加捕获粒子的机会，但这只对小粒子（小于 0.5μm）和低流速气体有影响。这种情况也适用于利用静电吸引捕获粒子。

细菌气溶胶已经证明了取样有效性，细菌气溶胶是用玻璃纤维簇收集雾化的枯草芽孢杆菌孢子，其颗粒半径刚好大于 1μm[13]。有关去除工业粉尘的理论研究已经逐步形成[14~16]。

4.4 空气过滤器的设计、操作和检测

由纤维和石棉所制备的粒状滤床、纤维介质和“绝对过滤器”常用于高效的空气过滤。对于纤维和颗粒过滤器，假设逐渐增加过滤器厚度，其减少颗粒含量的效果相同，则可用方程（19）来表示，

$$\frac{dC}{dx} = -kC \tag{19}$$

式中：C 表示进入厚度为 dx 滤层的粒子数；常数 k 表示过滤器截留颗粒的能力。这是一个关于纤维直径、纤维间距和工作气流速度的复杂函数。在入口和出口条件下积分得方程（20），

$$\log \frac{C_{out}}{C_{in}} = -kC \tag{20}$$

在过滤器设计中，采用对数形式的穿过效果，这在其他地方已有描述[7]。如果某个过滤器厚度能截留 90% 的粒子，当有 10^6 个粒子进入时，那么将只有 10^5 个粒子穿过。当它的厚度变为原来的 6 倍时，根据方程（20）的预测，将只有 1 个粒子穿过。对渗透性取对数适用于纤维过滤器[13]和颗粒滤床[18]。

5. 离心操作

在圆形轨道上运动的物体受到向外的离心力的作用，它可以平衡运动物体所受的向心力。此原理用于机械分离，称为离心过滤和离心沉降。在前者中，物料放于旋转的多孔篮中，篮子是用滤布编织成的，用于分离液体中的固体。本质上，过滤的驱动力来源于离心力。这不取决于两相密度的不同。

在离心沉降时，分离是利用两相或更多相密度的不同而实现的。在固-液混合物或液-液混合物的完全分离中，这种方法尤为重要。但是，如果没有达到完全分离，那么由于较大的颗粒具有较快的径向速度，在离心机中，分散相中颗粒大小存在着梯度。如果这样操作，离心机就会变成分级机。

离心沉降

液体中的粒子运动可用 Stokes 方程描述。如果粒子直径为 d，那么其在黏度为 η、密度为 ρ 的液体中受重力作用，沉降速度 u 根据方程（21）为

$$u = \frac{1}{18} d^2 \frac{\rho_s - \rho}{\eta} g \tag{21}$$

式中：g 表示重力加速度；ρ_s 表示粒子密度。离心时，离心力取代重力成为导致分离的驱动力。如果质量为 m 的粒子在半径为 r 的圆环中以角速度 ω 运动，那么离心力为 $\omega^2 r\ (m - m_1)$，m_1 为被取代配基的质量。因此，表达式 $\frac{\omega^2 r}{g}$ 为前面所述的例子中离心力与重力的比值，该值能超过 10 000。这种分离更快、更完全，并且对由于布朗运动，在重力作用下无法分离的包含小粒子的体系有效。

用粒子的体积和有效密度表达粒子的质量，则离心力可表示为方程（22），

$$\frac{\pi}{6} d^2 (\rho_s - \rho) \omega^2 r \tag{22}$$

在层流条件下，反向黏滞力为 $3\pi d\eta u$，u 代表粒子的自由沉降速度，联立方程，得到方程（23），

$$u = \frac{1}{18} d^2 \frac{(\rho_s - \rho)}{\eta} \omega^2 r \tag{23}$$

沉降速度与转篮的半径及旋转速度的平方成比例。离心沉降器有很多类型。对于在高速状态下使用的，离心机转筒是管状的，长和直径之比为 4～8。定期刮削离心管的管壁以除去固体。其应用包括脂肪和蜡质的清除，血液的分离和病毒的回收。

干燥

干燥可定义为将水分或其他液体从溶液、混悬液或其

他固-液混合物中蒸发并去除，得到干燥固体的过程。从液体到气体的相变与利用机械的方法从液体中分离固体，如过滤，是不同的。后者经常先于干燥，因为它们为除去大部分液体提供了一种应用广泛的廉价的方法。

通过干燥调整和控制含水量在药品生产和开发中是重要的。除了许多操作对干燥固体有明确要求外，干燥的目的在于：

• 改善加工性能，如大量粉末的装填及其他涉及粉末流动的操作。

• 提高湿敏物料的稳定性，如阿司匹林和抗坏血酸。

1. 原理

讨论干燥时涉及下列术语：湿度、饱和空气湿度、相对湿度、湿球温度和绝热冷却线。其他术语定义如下：

• 含水量。通常用每单位质量待干燥固体中水分的质量来表示。

• 平衡含水量。如果物料在已知的温度和湿度下暴露于空气中，那么它将吸收或损失水分直到达到平衡。这一点的含水量称为在给定条件下的平衡含水量。在给定温度下，平衡含水量会随着周围环境中水蒸气分压的变化而变化。

平衡含水量曲线随检测物料的不同会有很大改变。不溶物、无孔物，如滑石粉和氧化锌，在较宽的湿度范围内，平衡含水量几乎为零。一般情况下，棉织品的含水量在10%～15%之间；房间条件在平衡含水量以下时进行干燥可能要谨慎操作，尤其是如果物料在潮湿环境下不稳定，那么其储存就变得重要了。

从平衡含水量曲线中也能评估干燥后的储存效果。对于乳糖颗粒[19,20]来说，储存条件并不苛刻。而若在相对湿度只有65%的条件下储存抗酸制剂，如果时间充足，它会吸湿，直到湿度达到91%。这与其流动性不好以及由此导致的压片困难有关。

2. 向空气流中蒸发水分

向热气流中蒸发水分时热气流可以提供蒸发所需的潜热，这是一种常用的干燥机制，虽然这种方法不适用于回收液体。在液体表面蒸发时伴随有空气的流通，表面温度下降到与空气温度和湿度相对应的湿球温度，水蒸气从表面的饱和层转移到干燥气流中，其速度见方程（24）

$$N = \frac{k_g}{RT}(P_{wi} - P_{wa}) \qquad (24)$$

式中：P_{wi}表示表面的水蒸气分压；P_{wa}表示空气中的水蒸气分压；k_g表示传质系数；N表示单位时间从单位面积转移的水蒸气分子数。根据单位时间内从完全干燥的表面A转移的总质量W，重写上述方程，得方程（25）

$$W = \frac{M_w A}{RT} k_g (P_{wi} - P_{wa}) \qquad (25)$$

式中：M_w表示水蒸气相对分子质量；R为摩尔气体常量；T为热力学温度。传质系数k_g是温度、空气流速和气体入射角的函数。高流速和大入射角能够降低液体表面静止气层的厚度，并因此减少扩散阻力。

蒸发速度也能依据热量穿过从干燥气体到表面的层流膜的情况来表示，见方程（26）

$$Q = hA(T_a - T_s) \qquad (26)$$

式中：Q代表热传导速度；A代表表面积；T_a和T_s分别代表干燥空气和表面的温度；h代表传热系数。h是空气流速和入射角的函数。如果蒸发潜热为λ，传质速度W可由方程（27）得到

$$W = \frac{hA}{\lambda}(T_a - T_s) \qquad (27)$$

当这些条件适合干燥时，表面温度T_s即湿球温度，通常大大低于干燥气体的温度。这在干燥热不稳定物料时是很重要的。如果表面出现固体，则蒸发的速度将会改变，总体效果将取决于固体的结构和含水量。

3. 无孔固体的固定层

已经广泛研究包含无孔粒子的湿颗粒的干燥，这种颗粒在润湿的液体中是不溶的。该操作中含水量和干燥时间的关系见图5（a）。

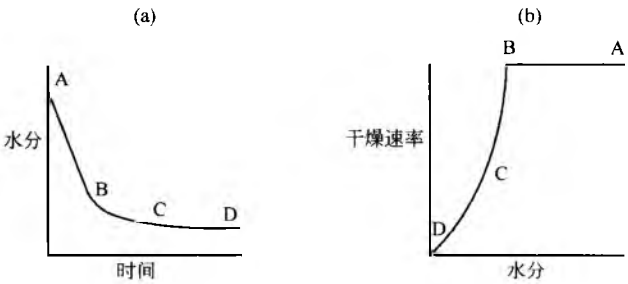


图5（a）水分与干燥时间的关系；（b）干燥速率与水分的关系

必须注意的是达到平衡含水量是很慢的。除去平衡值以上的水分需要很长的时间。如果在进一步操作中少量的水是允许的话，那么就不需要长时间的干燥了。

图5（b）是关于干燥速度和含水量的曲线。达到平衡的加热初期是很短的，这在图5（a）和5（b）中均已忽略。假设最初有充足的水分，那么A、B、C和D四点把干燥-速率曲线分成三段。A～B段称为恒速阶段，水分在饱和表面以一定的速度蒸发，蒸发速度由所接触的静止空气膜决定。这与纯水的表面蒸发类似，因此可用方程（11）和（13）表达。该阶段的干燥速度取决于空气的温度、湿度和流速，而干燥速度也可以决定饱和表面的温度。假设这些都恒定，在干燥方程中所有的变量都是恒定的，那么就可以得到与干燥物料毫无关系的恒定的干燥速度。干燥速度稍低于自由水表面的干燥，而且在某种程度上依赖于固体颗粒的粒径。在恒速干燥阶段，液体必须以足够高的速度转移到表面，以维持饱和。转移机制将在后面讨论。

在恒速干燥阶段的末端B点，干燥曲线突然改变。这一点称为临界湿度，随着进一步干燥，干燥速度呈直线下

降。因而 B～C 段称为第一个降速阶段。在临界湿度及以下，从内部移出的水分已不能再使表面达到饱和。随着干燥的进行，水分移动到表面的速度降低，并且控制水分转运的机制也影响干燥速度。因为表面不再饱和，所以表面温度将升高到湿球温度以上。

对于许多物质来说，临界湿度随粒子粒径的减小而降低。最终，水分不再移动到表面，则表面变干。蒸发表面变干，水蒸气通过各层间的孔道扩散到表面。这个阶段称为第二次降速阶段，由水蒸气的扩散控制。水蒸气的扩散速度与物料外部的条件无关，而是很大程度上受粒子的直径和孔道大小的影响。在这个阶段，表面温度接近干燥空气的温度。

液体在恒速和第一次降速阶段发生明显的迁移。干燥时任何的可溶组分都能在液体表面层形成某种浓度的溶液。当表面变干时，这些物料就会沉积下来。因此，干燥时，在滤饼中可溶组分会发生明显的分离。人们已经充分地研究过此效应[21]。

4. 干燥的内部机理

许多物料的干燥过程都与毛细管作用有关。如果一根逐渐变细的毛细管装满水暴露于空气中，那么当较粗的一端没有水时，较细的另一端弯液面保持静止。这种现象同样存在于湿颗粒中，可以用吸水势来解释。在曲液面的弯液面下存在负压，它与表面张力 λ 成正比，与曲率半径 r 成反比（假设弯液面是球面的一部分）。这种负压或吸水势可表示为液体高度，见方程（28）

$$h = \frac{2\lambda}{\rho g r} \tag{28}$$

式中：ρ 为液体密度。

由方程（29）得到在弯液面下深度为 x 处的吸水势 h_x：

$$h_x = h - x \tag{29}$$

粒子周围的空间称为孔，由通道相连，最窄的部分称为腰部。后者的尺度由周围粒子的大小和装填的方法而决定。在随机填充床中有不同大小的孔和腰部。因此，通过干燥层的毛细管半径是不断变化的。此网状结构中水的去除是由腰部来控制的，因为它的曲率半径更小，而且其吸水势大于孔的。这种机理的应用将另行讨论[22,23]。

5. 利用空气循环进行干燥

如果粒子的形状合适，可能在固体层中有向下的气流。除非每个粒子或团块像干燥层一样，否则干燥是以上述形式进行的。当空气流过自由表面时，暴露于空气中的表面积大大增加，干燥速度将提高 10～20 倍。

6. 固体运动的方式

作为气流通过静止的固体层干燥的一种扩展，只要向上的空气速度足够大就可能使粒子处于流化状态。另外，物料可被机械细分并加入到干燥气流中。由于干燥表面和气流的充分接触，两种方法的干燥速度都很高。流化床干燥和喷雾干燥就是分别以这些理论为基础的。

7. 固体在热表面上运动

固体在热表面上运动主要用于翻转干燥和搅拌干燥。因为新的固体不断暴露在热表面上，所以干燥速度要快于在静止床上的干燥。固体所受的热处理是较均匀的。

8. 间歇式干燥器

8.1 烘箱

烘箱利用热空气通过在托盘上铺展开的潮湿固体表面而工作的，这是最简单和廉价的干燥机。在小型设备中，空气通过电加热元件并一次性通过烘箱。大型设备中使用蒸气加热的翅片管，通过空气的再循环提高热效率。这是通过手动调节器来控制的，通常放出 10%，剩余的 90%进行再循环。加热器的位置应使固体不受到辐射热，而且进来的空气可以被过滤。

除了低成本外，烘箱的主要优势在于它的通用性。除了粉尘外，几乎所有性质的物料都可以进行干燥。把空气温度控制在 40～120℃可以干燥热敏物料。对于小批量干燥，可选择这种设备。但是，下列性质要求我们开发其他的小型干燥器：

- 对于烘箱和装载托盘的设备需要大量的占地面积。
- 装载和卸载烘箱的劳动成本高。
- 必要的干燥时间较长，通常 24h。
- 从空气中回收溶剂困难。
- 除非精心设计，否则空气在托盘上的不均匀分布将导致烘箱内温度和干燥时间的不同。在干燥片剂颗粒时，发现局部温度有时相差±7℃[19]。空气循环不好也会导致局部饱和，使干燥停止。

Shepherd 等已深入分析了托盘式干燥和各种操作变量的影响[24]。

如果物料是适当的颗粒状，利用空气向下通过放置在筛状托盘表面的物料，干燥时间可以降低到 1h 或更低。这种形式的干燥箱称为间歇式循环干燥器。

8.2 真空盘架干燥器

真空盘架干燥器提供了另外一种干燥少量物料的方法。当扩大规模时，需要制造更大的真空设备，成本也要升高。因此，只有当与干烤箱相比真空盘架干燥器具有明显的优势时，后者才被使用，如热敏材料的低温干燥或溶剂的回收。在某些情况下，氧气的排出也是有利的或是必须的。

热量通常由水蒸气或热水流经中空的支架来提供。如果高温干燥，那么支架上方的辐射会使物料表面温度大大升高。干燥时间长达 12～48h。

8.3 滚筒干燥器

干燥箱的局限性，特别是过长的干燥时间，促进了其他间歇式干燥器的设计和应用。其中最简单的就是滚筒干

燥器。它最通常的外形就是对顶圆锥形[19]。真空状态下，它能在低温下进行干燥，能回收溶剂，并且可以提高干燥速度。滚筒干燥器通过外壳和水蒸气间的传导加热。

对于直径为 2～7ft（0.6～2m）的干燥器，一般装填总体积的 60%，干燥时间约为 2～12h。在干燥片剂颗粒的研究中发现，滚筒干燥器足以替代烘箱，前者干燥时间为 2～3.5 小时，而后者则需要 18h[25]。翻转具有混合和制粒的作用，这些操作可以于干燥之前在同一设备中进行。

8.4 流化床干燥器

“流化”一词是指将疏松、多孔的固体转为流体的过程，通过向上流动使其表面平整，具有流动性以及压力-深度关系。

将空气作为流化介质的流化床技术，已成功应用于具有适当外形的固体的干燥中。干燥空气和固体间的接触要比托盘干燥高 10～20 倍。

流化床干燥对于粒状物料尤为适用，该方法正日益广泛地用于片剂颗粒的干燥中，前提是产品的转换不太频繁。机器大小不同，可处理的物料可多达 250kg。干燥时间，最大、最小和最适的风速，空气温度，以及结块和形成孔道的倾向都需要通过实验来决定，目前还不能准确地预测出来。

8.5 间歇式搅拌干燥器

间歇式搅拌干燥器包括夹套圆柱形容器，容器中装有用来刮擦底部和容器壁的搅拌桨。它可以在常压或真空环境下使用。糊状物料不能用翻转干燥器或流化床干燥器干燥，但可以在搅拌干燥器中以比在干燥箱中更快的速度干燥。

8.6 冷冻干燥

冷冻干燥是真空干燥的一种极端形式。冷冻干燥时，固体被冷冻，通过在低温和低压下升华固相进行干燥[26～30]。在这种条件下，干燥速度很慢，是最为昂贵的一种干燥方法，通常仅用于无法使用其他方法时的大批量干燥。

冷冻干燥广泛应用于在常规干燥时会导致快速分解的物料中。另外，当高温干燥时会在某种程度上导致某些变化的物料也可应用此方法。

理论上，冷冻干燥是一种简单的技术。纯冰的平衡水蒸气压在 0℃时为 4.6mmHg（611Pa），在－40℃时为 0.1mm 汞柱（13.3Pa）。当然，当冰中含有溶解物时，水蒸气压会更低。但是，如果在冷冻溶液上面的气压低于它的平衡水蒸气压时，冰会升华，最终留下与最初固体表观体积相等的海绵状溶质。

9. 连续式干燥器

虽然连续式干燥器的品种很多，但是能够满足制药工业操作规模的干燥器很少。为了在最大程度上保持可连续操作，对于小型设备来说，高额成本令人乍舌。但喷雾和转筒式干燥除外，因为在干燥器中停留的时间很短，热解程度被降到最低。在某些条件下，或许只能用冷冻干燥法代替。

9.1 喷雾干燥

干燥溶液或混悬液时，通常将其喷入到热气流中，在一个封闭腔内进行循环。干燥的产品可用旋风分离器或袋式分离器分离，也可落到干燥室底部，通过阀门取出。虽然腔体与底部比例的变化范围很大，但干燥室通常是具有圆锥形底部的圆柱体。喷雾干燥过程可分为 4 部分：流体的雾化，液滴的混合，干燥以及最终干颗粒的排出和收集。

在垂直喷雾干燥器中，干燥气体的流动方向可以与液滴的运动方向相同或相反。但是，气体的运动是复杂的高度湍流。液滴与气体混合充分时，传热和传质的速度就很高。加之雾化的界面接触面积很大，这些因素使得蒸发的速度很高。液体在干燥器中的存留时间很短，只有几秒钟（5～30s）。既然物料大部分时间都保持在湿球温度，即使是热敏物质也可使用 150～200℃的高温气体。虽然最终物料的温度升高到湿球温度以上，但是干燥气体更冷，并且物料几乎已经变干，这种情况下，许多物料对热并不敏感。

干燥发生在简单蒸发而不是沸腾时，我们可以观察到液滴在雾化器中一英尺地方达到自由沉降速度。超过它时，液滴和干燥气体之间就没有相对速度存在，除非液滴的粒径很大。液滴可以干燥形成圆形颗粒状固体。但是，如果新出现的固体形成外壳，那么内压可使颗粒膨胀，使产品最终形成空心球，这个球可能有气孔，也可能没有。这些球也会破碎，导致最终产品为一团细碎物。

喷雾干燥器的价格和运转成本很高，但是，如果规模足够大，它可以成为一种最廉价的干燥方法。当小批量干燥热不稳定物料时，其成本要比干燥箱干燥高 10～20 倍。干燥精细化学品和食物时，常用间接方法加热空气。因此，会降低热效率增加成本。在某些其他设备中，可以通过直接燃烧来获得热空气。

9.2 转筒式干燥器

转筒式干燥器包含一到两个缓慢转动的蒸气加热的圆筒。通过液体进料口将圆筒用溶液或浆料进行涂抹，位于转筒下部的进料口浸在不断搅动的物料槽中。在某些双滚筒干燥器中，通过两个圆筒的间隙加入液体。有时也用喷雾和喷射进料。在液体加料时，热的滚筒必须不能使沟槽中的液体沸腾。干燥是通过简单蒸发而不是沸腾进行的。干燥完毕的物料用刀片在适当的位置从滚筒中拨离出来。

滚筒转速和加入物料的温度影响其干燥能力，物料可以预热。对于双滚筒干燥器，两个圆筒的间隙决定了膜的厚度。

与喷雾干燥器相似，小型滚筒干燥器是相对昂贵的，因为有接触时间短的优势，在制药工业中它们在很大程度上仅限于干燥热敏性物料。滚筒通常是由不锈钢或镀铬钢

制成的，这样可以减少污染。干燥时的热处理强度要大于喷雾干燥时的强度，并且干燥时，产品的外形一般。液体干燥时的温度接近它的沸点，干燥的固体达到滚筒表面的温度。

粉碎和筛分

结晶物质的理论强度可通过原子间的引力和斥力进行计算。但是，实际物质的强度要比理论值小很多倍。可以由不同的裂痕来解释此偏差，例如晶格结构微小的裂缝或不规则被认为是错位。它们能在缺陷附近集中应力。碎裂能在比理论预测值低得多的总应力下发生。碎裂是随着裂缝尖端的发展而发生的，裂缝尖端可在物体中快速地扩展，渗透到其他裂痕中，进而导致产品的二度碎裂。因此，物体的强度取决于裂痕的随机分布，并且其统计量在一定范围内变化。此概念解释了为什么物体越来越难以研磨。因为随着粒子粒径的减小有效裂缝的概率也减少，随着无裂痕区域的增加，物体的强度增加，直到等于理论强度。由于复杂因素，如聚集，现实中不存在这种状态。

大多数物体的压缩强度大于拉伸强度。因此技术难度使得我们无法直接利用这些张力。压缩应力通常用于粉碎设备中，粉碎设备并不能直接导致碎裂，但是通过充分的扭曲或剪应力，在远离初始应力作用点的区域中产生裂缝。虽然这种效率低，但却是不可或缺的机制。碰撞和摩擦是应力的其他基本作用形式。碰撞和压力的区别将在后面讨论。摩擦是经常应用的，很难划分，但可能主要是一种剪切机制。

脆性物体的变形以及随后的破碎不但是应力的函数，而且也是所加应力速度的函数。缓慢挤压破碎和以相同能量碰撞破碎的结果是不同的。粒子的形状、大小和粒度分布都可能受到影响。在撞碎时力作用速度很快，以至于通过意外的撞击产生的能量会超过极限应变能的几倍。破碎与否取决于最大应力和碎裂之间的滞后时间。

作用力可进一步地复杂化，包含“自由碰撞”和“约束碰撞”机制。在自由碰撞时，加在不受束缚的粒子上的应力在粒子碎裂时释放出来。在约束碰撞时，应力一直加在粒子的破碎层上。虽然粒子大小进一步减小，但是此过程效率不高，因为通过粒子内部的摩擦和经由粒子应力转移时，能量损失掉了。并且经由粒子转移能量时，粒子本身并未破碎。当结晶体放在研棒和研钵中研磨时，这一点很容易证实。最初产生的细粉保护了较粗的颗粒。如果将物料过筛，留下大颗粒，这样操作可以用较少的力即可达到目的。

关于研磨时的净能和粒度的降低有各种假设。首先，1867 年 Karl von Rittinger 提出降低粒径所需的能量直接与表面积的增加成正比，见方程（30）

$$E = k(S_p - S_f) \tag{30}$$

式中：E 代表所消耗的能量；S_p 和 S_f 分别代表产品和给料物的表面积。常数 k 取决于研磨的单位，代表增加每单位表面积所消耗的能量。表面积和粒径的关系已经推导出，可重写为方程（31）

$$E = k(\frac{1}{d_p} - \frac{1}{d_f}) \tag{31}$$

式中：d_f 和 d_p 分别代表物料和产品粒子的粒径。

该假说表明，每单位新表面积所消耗能量的增加速度要快于物料和产品粒子尺寸的线性比率，这一现象已经被注意到并予以说明。在某些研磨过程中，输入的净能量与新产生的表面积的比例已经确定。

在 1885 年公布的 Kick 定律中，研磨能与表面能之间的转变被忽略了。它是基于弹性物体的变形和碎裂，指出几何相似物体在结构上产生类似改变所需的能量与这些物体的质量和体积成正比。所需的能量与最初的粒径大小无关，仅取决于粒径降低的比率。Kick 定律预测的能量比 Rittinger 所提出的要低。但是这个理论要求碰撞时的阻力不能随着粒径而改变。当研磨时表观强度可能已大大增加了，却由于忽视了物料中真实存在的缺陷从而低估了研磨所需要的能量。

粉碎的第三种机理为 Kick 和 Ritteinger 定律的中间产物[31]。该理论基于三个原则：首先是任何碎裂的物体能量必须为正。当粒子的粒径为无穷大时，能量只能为零。对于任何粒径减小的过程，输入的能量 E，等于产生的能量减去给料物的能量。随着粒径的降低，粉末的能量增加，并且假设能量值与粒径的 n 次方成反比。因此可利用方程（32）：

$$E = E_p - E_f = \frac{K}{d_p^n} - \frac{K}{d_f^n} \tag{32}$$

指定 i 为 n 的一个值，这个理论[31]的第二个原则是“施加于已知量的均相物料之总有用功与产品直径的平方根成反比。”

第三个原理是物体的碎裂由裂痕结构来决定。这种粒径降低的方面已经讨论过了。

Kick 定律的修正版有时称作粉碎的第四定律[32]。有关其讨论请见原始文献。

通过能量损耗与粒度降低关系试验和在自由粉碎条件下实验室试验所获得的数值的对比，可得到一个研磨效率的经验性方法。其中自由粉碎所提供的所有能量全部用于粉碎，即对碰撞试验来说假定 100%有效。缓慢碰撞和冲击试验都可应用。大量的单颗粒可以同时进行撞击并且测量了所做的功[33]。后者与粒径减小有关。在实际研磨时，可进行相似的测量，以自由碰撞值百分数的形式表达过程的有效性。在此基础上，滚压粉碎机的效率约为 80%，摇摆锤式粉碎机为 40%，球磨机为 10%，流能磨只有 1%。

1. 研磨操作

Heywood[34]指出，任何撞击型或研磨型粉碎机的最佳粉碎状态都是当能量与新表面积之比最低时。如果要精细研磨，那么此比率会增加。如果所需粒径的大小超出研磨能力的范围，那么研磨效率将显著降低。在单次操作中，

粒径降低的比率是有限的；而若分为若干阶段每个阶段都使用适合的研磨则可以获得更大的比率。流能磨是例外，它能使粒径降低的比率达到400。

低保留时间是自由破碎机固有的性质，从而很少发生过度粉碎，也就避免了过细物料或细粉的产生。许多低速粉碎机的粉碎时间很长，所以有很多物料被过度粉碎。粉碎机中粒子的聚集降低了破碎力的效果，因此粉碎效率越来越低。

1.1 干法和湿法研磨

在含水量大约为5%～50%时，物料结块，不会流动。两种因素不利于有效的研磨。干法研磨在低含水量的条件下进行，上限取决于物料的性质。虽然植物药材允许5%或者更高的含水量，但是对于粗糙不透水的固体来说，此含水量过高。

当需要液体混悬物时，经常使用湿法粉碎，因为干法粉碎在此有很多弊端。在某些制备中，首要目的是均匀分散，其次是降低粒径。当用干法粉碎产生聚集时，为了降低粒径可以使用湿法粉碎。

湿法粉碎具有一些普遍的优点，例如提高粉碎能力，降低能耗，消除粉尘隐患和更方便的物料处理。除了可能还需干燥外，其主要缺点是增加了设备的损耗。

1.2 温度敏感性

在粉碎温敏物料时必须小心，特别是对非常细小的产品更需如此，因为超过软化点就会成团。可以在研磨前冷冻物料，若设备允许也可在研磨时冷却物料。蜡质固体和干冰一起研磨效果很好，因为物料在低温下拥有脆性。高温研磨时会发生化学降解。在惰性气体中研磨可避免氧化，如氮气。

1.3 结构改变

据报道，在精细研磨时有很多物理结构发生改变的例子，例如，球磨粉碎后碳酸钙的晶型发生改变[35]，高岭石的晶格扭曲[36]和巴比妥盐形成不同的晶型[37]。这些变化可能影响溶解性及其他物理性质，反过来这些性质会影响处方和治疗效果。

1.4 粉尘危害

在干法研磨中粉尘的危害变得越来越严重。有极强药效的物质需要机器有防尘装置，操作者须穿防尘外衣并佩戴防尘面具。许多具有爆炸性的粉尘也可能带来危险。

2. 研磨设备

下列设备常用于干法粉碎药物：轧边机、碾磨机、锤式粉碎机、针式粉碎机、球磨机、振动粉碎机、流能磨、胶体粉碎机和滚压机。

3. 筛分或粒度筛选

虽然粒子的很多性质都能用于粉末分类，但是只有两个是重要的。第一个基于粒子通过孔穴的能力。这就是筛选或筛分。第二个使用拖拉的方法使粒子通过流体。“分离”这个词有时仅用于这种分离方法，但这里使用“淘选”和“沉降”。通常筛分用于粗大粒子的分离，沉降法用于小粒子的分离。

3.1 筛选和筛分

筛选和筛分广泛用于相对比较粗大粒子的分离。对于较大粒子来说（>0.5in），使用坚硬的穿孔托盘进行分离。但是，制药中筛分只是以编织网的形式分离小粒子药物。除非用特殊方法阻止堵塞和粉末凝聚，否则布料编织品的使用下限为200目/in（70～80μm）。此种细筛网极度脆弱，使用时必须非常小心。

通常随着使用范围的扩大，精密度有所下降。对于连续筛分，原料通过筛网，在指定位置收集。颗粒在筛网上的保留时间很短，许多本应通过的小粒子错了过去，没有通过。随着筛分面积的增加，筛网越发的脆弱，目数最细的筛网必须用较粗的线编织。例如一大型分离装置利用了圆形筛，直径长达5ft（1.5m），在水平面上振动，通过连接到装置上的离心转轮做旋转运动。有些设备，筛网呈矩形，微微倾斜（5°～30°）。旋转时物料从顶部加入，进而分离。这些设备的隔板不止一层，可以同时进行几种级别的分离。

3.2 淘选和沉降

最简单的分类器就是粒子悬浮在上升流体中。在这种情况下，与向上的拖拉相反的力就是重力。如果反方向的终速度高于当前速度，粒子就会下沉。这就是淘选原理；当条件满足Stokes定律时，粒径为d的粒子在分离时遵循方程（32）的重新整理形式，见方程（33）

$$d=\sqrt{\frac{18\eta\mu}{(\rho_s-\rho)g}} \tag{33}$$

式中：$\rho_s-\rho$为固体和流体间的密度差；η为流体黏度；μ为上升流的速度。

实际上，由于自然对流以及违背Stokes定律从而导致流动情况发生波动，模糊了分离点。

离心是把两相完全分离的常用操作。但是，如果给料的速度不能将所有粒子都分开，则需要使用粒子分级器。这可用转鼓式离心机来说明。它包含一个水平放置的平头钢制外壳。它的壁上包含一个螺旋输送机，旋转的速度比外壳的速度稍快。在外壁沉积的粒子被转移到较窄的末端排出。溢流将小粒子带到另一端。更多细节和其他离心分离机请见Treasure的文章[38]。

混合

混合[39]指使两种或更多已分离的组分或在粗略混合状态下，每种组分的每个粒子都与其他组分的每个粒子尽可能接近的操作。与“掺和”是同义词，与“分离”和“分

开”意义相反。

混合的分类[40]如下：

(1) 主动混合：体系在给定的时间下可以自发的充分混合。例如，两种气体或可互相混溶的液体。此时混合设备用于加速这种混合。

(2) 被动混合：如悬浮在液体中的固体。任何两相都会由于密度不同而发生分离，除非不停的搅拌。

(3) 中性混合：除非有外力作用于体系，否则既不发生混合也不发生分离。例如，固体混合或大量固体与少量液体混合。

但是，理论上的知识并不能够预测混合器的运转情况。更多时候是根据实践经验来作出选择。

1. 固体混合

所有物质的混合都包含粒子的相对位移，无论这些粒子是分子、小球还是小的结晶体，直到体系达到最大的无序状态和完全的随机排列。

1953 年 Lacey[41]指出两种自由混合的物质在组成上的变化可见方程 (34)

$$s=\sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \tag{34}$$

式中：s 代表样品的标准偏差；p 代表一种组分所占的比例；n 代表样品中的粒子数目。此方程要求两组分的粒径、形状和密度相似，只是中性性质有区别，如颜色。如果很多样品是从两物质等量混合物中取出的，每种物质都包含已知数目的粒子，那么分析结果就以频率曲线的形式表示。其中样品经常分布于混合物平均含量的附近，99.7%的样品满足 $p=0.5+3\sigma$。样品的标准偏差与样品中粒子数量的平方根成反比。如果粒径降低到一定程度，相同质量的粒子，数量为原来的 4 倍，那么标准偏差就会减半。

在一次重大的有关制剂混合的检验中，Train 指出随机混合的等分组分 A 和 B 的样品一定包含至少 800 个粒子，这样每 1000 个样品中就会有 997 个在规定组成的±10%范围之内，也就是说，A 的比例 $p=0.5\pm0.05\sigma$，其中 $\sigma=0.05/3$。假如限度变为±1%，那么每个样品必须包含 90 000个粒子。σ 为真实的标准偏差。通过回收样本数来估计标准偏差，用 s 表示。

如果不是等分组分 A 和 B，A 在混合物中的比例为 0.1 (10%)，规定限度为±10% (每 1000 包含 997) 时，那么要求每个样品包含超过 8000 个粒子。如果活性组分比例为 0.01 或者说 1%，那么每个样品中的粒子数量应为 90 000 个。如果限度降为+1%，活性组分为 0.01 或者说 1%，那么每个样品的粒子数量应为 90 000 个。如果限度降为±1%，那么数量将为 9×10^6 个。

这些结果的理论偏差取决于所组成粒子的粒径大小、形状和密度。这些情况在固体的实际混合中是不会遇到的，这些将在以后叙述，这些因素的任何一个都能阻止随机混合的形成。因此，如果所给限度维持不变的话，每个样品中的粒子数量必须增加。

正如已经表明的，从随机混合中取得的一系列样品标准偏差为 s_r。Lacey[43]指出，混合指数 M 可用方程 (35) 表示：

$$M=\frac{s_r}{s} \tag{35}$$

式中：s 为从待测混合物中抽取样品的标准偏差，当混合完成时，这将趋于 1。见方程 (36)：

$$M=\frac{s_0-s}{s_0^2-s_r} \tag{36}$$

式中：s_0 是未混合样品的标准偏差，它等于 $p(1-p)$，这里 p 是混合物中组分的比例。该方程修订为方程 (37)[43]，用样本方差表示，

$$M=\frac{s^2-s_r^2}{s_0^2-s_r^2} \tag{37}$$

对表示混合物状态来说，这是一个基本方程，指数 M 在 0～1 之间变化。

二项式和泊松分布已经用于检验混合物的状态。如果在只有黑白两种粒子的随机混合物中黑色粒子所占的比例为 p，那么根据方程 (38)，在 n 个粒子中想要得到 x 个黑粒子的概率 $P(x)$ 为

$$P(x)=\left(\frac{n}{x}\right)p^x(1-p)^{n-x} \tag{38}$$

如果 p 很小 (<0.15)，n 很大，那么可以用泊松分布，应用方程 (39)：

$$P(x)=e^{-m}\frac{m^x}{x} \tag{39}$$

其中：$m=np$，表示 n 个粒子的样品中所含黑色粒子的平均数量。此关系式可用于干混设备的评估[44]。如果 m 大于 20，取样量超过 10，则：

- 大约 10%样品含有黑色粒子的数量在 $m\pm1.7\sqrt{m}$ 以内；
- 大约 5%的样品含有黑色粒子的数量在 $m\pm2.0\sqrt{m}$ 以内；
- 大约 1%的样品含有黑色粒子的数量在 $m\pm2.6\sqrt{m}$ 以内。

1.1 混合和分层机理

相对运动粒子的随机性由下列机理实现：

- 对流混合，即部分邻近的粒子从一个位置转移到另一个位置。
- 扩散混合，即粒子向新产生的表面分布。
- 剪切混合，即在整体中产生滑面。

对流混合主要发生在静止容器中混合成分的运动中，例如，卧式螺带式混合器。成组相邻的粒子从一个位置移动到另一个位置，有规则地减少隔离范围。

扩散混合主要发生在旋转混合中。随着物料被提起超过它的休止角，物料不停地翻转。当粒子碰撞或陷入其他粒子层的空隙中后，它会改变原有循环路径，进而达到混合。

当在外力作用下的粒子产生滑动时，会导致两区域的

相对移动，此时发生剪切混合。例如，在双圆锥形混合器中，随着大部分物料从一端落到另一端，物料的外形被改变，发生剪切混合。Train[42]强调物料膨胀的重要性，以便剪切力可以见效。一个实用的推论是如果机器的装量过多，那么效率必然降低。

只要某种粒子不被优先捕捉，随机混合最终会在径向面上发生。但是，如果某种组分过小，密度过高或形状特殊，它会被优先截留，移动到混合区的底层直到它最终集中成为混合器长度的中央轴。类似的效应发生在轴向混合中，并且在轴向运动和径向运动的影响下形成分离区的最终形状取决于物料的流动性。据报道双圆锥形混合器会达到类似效果[44]。从混合器中将物料倒出时依旧会发生分离。

1.2 混合速度

因为混合是为了达到均匀随机性的过程，所以混合速度与待要混合的总量成比例。如果最初粒子改变它的循环路径，那么它很可能会处在一个不同的环境中。混合速度因此很高。在此过程结束时，粒子不大可能在一个不同的环境中，这种改变对混合毫无作用。当混合进行得越少时，混合速度最终会达到零。方程（40）代表混合机制：

$$\frac{dM}{dt} = k(1-M) \tag{40}$$

式中：混合指数 M 在前面已经定义过。将方程 40 积分，得到方程（41）：

$$M = 1 - e^{-kt} \tag{41}$$

速率常数 k 取决于被混物料的物理性质、混合器的几何形状及其操作。

2. 混合机

2.1 槽形混合机和螺带式混合机

简单的槽形混合机有一个半圆形的沟槽，在沟槽内部装有一个搅拌叶轮，就像装在整个沟槽轴转动方向上的大量不同角度的桨叶，不规则的旋转、提升和分配物料。当叶轮提起物料时，产生对流和剪切混合，还产生小范围的扩散混合。

螺带式混合机使用带状输送卷轴。螺旋形，可以是连续的也可以是间断的，在一个半圆形的沟槽中旋转，通过对流和剪切进行再次混合，从而实现快速的粗分离。以相反方向运输物料的双螺带往往紧贴传送杆。虽然在传送杆附近很少发生轴向混合，但是就算组分的粒径、形状或密度不同甚至趋于凝聚，通过延长混合时间，仍能得到非常均匀的混合物。

2.2 转鼓混合机

转鼓混合机主要利用扩散机制进行混合，它适用于流动性好及粒状物料的混合。混合时的力量很轻，这样可以防止物料混合时严重的聚结，适用于脆性物料的混合。混合器在几何学上的设计非常精巧，这样可以使物料充分的混合，这对于快速的整体混合是必要的。混合器内部也可以使用隔板和可升降的搅拌桨。例如，在简单的鼓式混合器中，物料沿内壁作轴向运动的速度非常缓慢，通过以上方法可以提高该速度。

3. 液体混合

可混溶的液体通常在储液槽中靠叶轮的旋转进行混合，储液槽中有桨叶、螺旋杆和涡轮。所有的物料都应在短暂的时间间隔内通过叶轮，混合器的设计阻止了死角的形成。紊流，即由叶轮旋转而产生的高速液流，通过涡流起到混合的作用。一种组分的薄带在另一组分中快速扩散，最终通过分子扩散而消失。

从以下三个方面分析流动模式：

- 径向流动，与叶轮杆的方向垂直。
- 纵向或轴向流动，与叶轮杆的方向平行。
- 切线流动，液体沿叶轮杆作环状流动。

一个令人满意的流动模式取决于这些组分的适当平衡。在一个圆形槽中，在槽壁的作用下，径向流动引起了轴向流动。切线流动不会受到上述影响。它的优势在于以层流循环的方式在不同浓度上产生分层现象。此外，在液体表面产生涡流贯穿叶轮，造成空气分散到液体中。通常，切线流动应该降到最低，这可以通过把叶轮转到非中心的位置来实现，也可以通过隔板改变流动方式，前者破坏了混合器的对称性。装有垂直搅拌器的储液槽可装一片、两片或更多的隔板，垂直安装或刚好离开管壁。这些措施只是减小切线流动但并不能消除切线流动，对于径向流动和轴向流动的影响很小。隔板会产生额外的紊流。

3.1 桨式混合机

对于简单的桨，在上部和下部有桨叶，适用于低黏度可混溶液体的混合，在桨叶（10～100r/min）背面的紊流区，切线流动为主要的流动方式。框叶式桨适用于高黏度液体的混合，而底部和桨叶之间间隙小的锚形桨适合在传热表面工作。混合器中固定的桨叶与运动的元件啮合，抑制漩涡的形成。在其他例子中，隔板也是必要的。除非桨的叶片向前倾斜，否则降低了液体的轴向旋转。因此桨不适用于已分离的混合物。

3.2 螺旋桨式混合器

螺旋桨常用于低黏度可混溶和不相混溶液体的混合。船用螺旋桨就是其中典型的一类。相对较小的部件高速旋转（400～1500r/min）在叶轮附近产生较高剪切速率，流动形式主要为轴向流动和切线流动。在偏心位置或倾斜安装后，它们可用于无挡板的储液槽。在大规模操作中，经常将其水平安装在容器的一边。

3.3 涡轮机

涡轮的设计是介于平桨和螺旋桨之间的。涡轮机可在

较宽的黏度范围内进行混合，是一种多功能的混合工具。径向和切线流动的比值是此叶轮的主要参数，它随着运行速度的增加而增加。斜桨涡轮有时用来增加轴向流动。除非涡轮被隔开，否则必须用隔板限制涡流。此叶轮不产生切线方向的流动。

灭菌

灭菌操作并不能使产品绝对的无菌或有菌，因为此过程是一统计学现象。可采用多种技术[45]灭菌，包括加热、辐射、环氧乙烷灭菌和无菌滤过。

1. 热力灭菌法

灭菌所需的热量取决于温度（T），持续时间（t）和当前的湿度。例如，在活细胞中加热使蛋白质凝固，出现凝固时所需的温度与当前的湿度成反比。

1.1 干热灭菌法

耐高温（>140℃）的物质适用于干热灭菌。暴露于180℃下2h或260℃下45min不仅可杀死微生物的繁殖体也可以杀死芽孢。此时间不包括从装入烘箱到加热到灭菌温度的滞留时间。滞留时间取决于烘箱的几何形状和操作特性以及被灭菌物质的性质。

自然和强制对流型烘箱都能使用，这在干燥一节中已经说明。与自然对流型烘箱相比，强制对流型烘箱具有加热均匀的优点，它有效降低了滞留时间。干热法只能用于玻璃和金属灭菌，在此温度下其他物质会碳化（纤维素）、氧化（橡胶）或熔化（塑料）。

1.2 湿热灭菌法

湿热法是一种在低温下非常有效的方法。水蒸气的热容显著大于干热空气。在高压灭菌器中，压力下（15psi），水蒸气（121℃）20min或（27psi，132℃）3min可有效杀死芽孢和细菌繁殖体。物料充分灭菌的滞留时间很重要。

2. 辐射

紫外光常用于降低空气中的微生物污染。通常用发射253.7nm光的水银灯进行表面灭菌。

辐射灭菌包括使用X射线和γ射线的电离辐射。前者由电子轰击目标重金属获得。后者通过从激发态到基态的原子核衰变得到。

从辐射中得到的能量等于光子的能量 $E=h\nu$，且 $\nu=C/\lambda$，（E 和 ν 分别代表光子能量和频率），h 代表普朗克常数，C 和 λ 分别代表光的速度和波长。从辐射源吸收的能量等于剂量。

1rad =100erg/g 吸收物质

$=6.24\times10^{13}$eV/g

$=2.4\times10^{-6}$cal/g（10×10^{-6}J/g）

辐射源有很多种。^{60}Co 核衰变到^{59}Co 放出两个光子（1.17和1.33MeV）和一个电子（0.31MeV）。衰变半衰期为5.3年。^{137}Cs 衰变放出一个光子（0.661MeV）。铯的半衰期为33年。电子束的能量能加速到5～10MeV。在5MeV以下不足以穿透灭菌。穿透灭菌的深度与能级有关。例如，与水密度相同的物质（$\rho=1$g/cm^3）能达到0.5cm/MeV。^{60}Co 射线能在水中穿透30cm。加速电子束的放射剂量率高，辐照仅仅需要几秒钟。^{60}Co 的放射剂量率较低，需要辐照几个小时。

电离放射线是由光电效应、康普顿效应或离子对的产生而引起的。γ射线会导致局部严重损害，且可以破坏化学键。其主要目标是微生物的脱氧核糖核酸（DNA）。另外，可以形成自由基，如过氧化物。射线可通过链反应产生破坏，使细胞内和细胞外产生过氧化物。

辐射损害的程度取决于所吸收的能量，与受辐射微生物的数量和耐受性有关。单细胞生物的耐受性比多细胞生物的高。革兰氏阳性菌的耐受性比革兰氏阴性菌的高。最后，细菌芽孢的耐受性要高于繁殖体的耐受性。病毒比细菌的耐受性好。杀灭病毒总量90%所需的能量（D 值）为0.5Mrgid（5mGy）。真菌与细菌芽孢的耐受性相同。

为了评估剂量必须知道许多参数。放射源强度（如^{60}Co）多大才有效？一个典型的放射源应在500 000～2×10^6 居里（Ci）范围内，1Ci是每秒产生3.7×10^{10}次衰变。必须知道产品的几何形状和把其运送到放射源的速度。可通过许多方法来估计剂量。对于块体或液体装安瓿剂，可用UV测定硫酸铁铵和硫酸铈紫外吸收的变化。但是，此方法仅适用于^{60}Co 和^{137}Cs。

放射性铬固体是可以利用的，用可见分光光度法测定。琥珀色和红色聚甲基丙烯酸甲酯分别用于测定剂量的0.1～1.0Mrad和0.5～5.0Mrad的辐射。辐照后检查尼龙膜的不透过性，可以用来测定0.1～5.0Mrad的辐射。

验证需要测定生物负荷和 D 值。它们代表需要达到灭菌的剂量和评估的剂量。如果D值很低，那么可以认为剂量过大了。短小芽孢杆菌天生就对γ离子辐射有很强的耐受性（D 值在0.15～0.22Mrad）。FDA推荐在微生物中应减少12-log。所需剂量大约是2.6Mrad。

3. 环氧乙烷

环氧乙烷（沸点为10.8℃）是一种气态烷化剂。它可以使微生物体内的蛋白质、核糖核酸和脱氧核糖核酸烷基化。它用羟乙基取代了不稳的氢。环氧乙烷是作为一种表面杀菌剂应用的。块体结晶物质可利用结晶使生长期的细菌细胞和芽孢闭塞。因此，环氧乙烷并不与它们接触。灭菌之前的最后一步是无菌重结晶步骤。

环氧乙烷是具有芳香气味的无色气体。气味的阈限为700ppm。OSHA规定工人接触的限度为10ppm。环氧乙烷的毒性与氨水相似。它可以引起结膜和呼吸刺激，导致头晕、头痛和呕吐。它能致突变，可以致癌。副产品包括乙二醇（沸点198.9℃）和乙炔（沸点128.4℃）。纯环氧乙烷可燃易爆。它通常与抛射剂（88∶12）或 CO_2（90∶10）

混合。90～120 天内液态环氧乙烷会发生聚合。这时它会堵塞管道或沉积形成聚合淤渣。

环氧乙烷可将所有的微生物灭活。灭菌速度取决于它的浓度、温度、作用时间和微生物的含水量。灭活遵循经典一级动力学过程，是不可逆的。相对湿度起协同作用，在 30%～60%下微生物与水化合。水可以作为载体，携带气体通过聚乙烯和聚丙烯。聚乙烯可以吸收环氧乙烷，使其在几年中散发，因此不适用于环氧乙烷灭菌。40～60℃的温度适合热敏物品。温度、相对湿度和环氧乙烷的浓度越低，灭菌周期越长。通常使用的浓度为 350～700mg/mL；周期为 4～12h。

下列灭菌方法通过动态过程排气，其中滤过的空气通过产品 12～72h。脱气通常在腔室内操作，但也可以在无菌设备内进行。此过程用生物指示剂尼日尔枯草芽孢杆菌监控，芽孢指标条在市场上可以买到（每条 10^6 个芽孢）。另外，验证时用热电偶检测。灭菌器内的气体混合物在不同点取样，用气相色谱分析。

4. 无菌过滤

几种形状不同的过滤器都适用于无菌过滤。在它们的不锈钢支架（<293mm）上有层扁平的膜，褶皱的膜装在不锈钢的药筒里，叠加在扁平的膜滤器中。

含孔隙的由纤维构成的基质过滤器深度达 120μm。硝酸纤维素可溶于易挥发的溶剂，如乙酸戊酯、乙醚或二噁烷。可以加入凝胶化溶剂，如丙酮、乙醇或丙醇。混合物被倒在一个扁平的托盘上，在控温环境下干燥。孔径取决于凝胶化溶剂的浓度。其他可用作过滤材料的有纤维素，乙酸酯和丁酸酯、聚酰胺（尼龙）、聚砜类、碳氟化合物（微孔滤膜）、聚偏氟乙烯（疏水性的）、用有机酰胺修饰过的表面（亲水性的）、丙烯酸酯聚合物或聚氯乙烯。为了使某些膜具有亲水性可加入表面活性剂，如 Tween 80、Triton X-100、羟丙基纤维素或甘油。滤网过滤器的原料为聚碳酸酯（核孔为 10μm）。校准直的铀裂变产生的射线在膜中形成印迹。化学腐蚀决定了孔径的大小。

4.1 吸附和筛分

大多数膜滤器浸湿时会带负电荷。细菌带有相似的负电荷，不一定会留在过滤器上。在这种情况下应该选择具有其他特征的过滤器，如带正电荷的（AMF Zeta Plus Membrane）或吸附蛋白或多肽的（Pall Posidyne Nylon 66）过滤器。

离子强度、pH、压力和流速会影响粒子的吸附。通过滤器时的流速见方程（42）：

$$Q=\frac{C_iAP}{V} \tag{42}$$

式中：C_i 表示过滤器本身对流动的阻力（空隙容积的函数）；A 表示表面积；P 为压力；V 代表黏度。根据标准孔径和绝对孔径（过滤器中的最大孔径），鉴定过滤器等级；由此认定孔径的分布。

4.2 过滤器的完整性

很多方法可以评价过滤的完整性。破坏性试验包括用 0.2μm 的过滤器过滤细菌细胞（缺陷假单胞菌，0.3μm×1μm）的混悬液。如果每毫升包含 1×10^7 个微生物的混悬液 6L 通过 1μm 的过滤器，那么应该没有微生物，并应减少 8-log。起泡试验假定孔隙具有毛细管的特征。当全部浸湿时，所有的毛细管都充满了水或溶液。孔隙的长度远远大于直径。将压力加到浸湿的过滤器上。起泡点的压力 P 见方程（43）

$$P-\frac{4\gamma\cos\theta}{D} \tag{43}$$

式中：γ 为表面张力（72dynes/cm^2 或 7.2Pa）；θ 为接触角；D 为毛细管直径。在无菌过滤前和过滤后进行起泡试验。

已知面积的过滤器必须在给定体积的产品中浸渍规定的时间。当带有某种特殊目的去选择过滤器时，必须首先确定活性组分在 40～60℃下 60 天的加速稳定性。得到样品破坏程度及定性和定量上的分析结果，估计样品的耐受性。

提取和浸析

浸析或固-液萃取指从固体或半固体物质中用适当的溶剂提取溶质的过程。无论什么时候茶和咖啡都可用此方法生产，是制备许多精细化学产品的重要步骤，这些化学成分是从动物和植物组织中发现的。例如从种子中提取固定油类，以及生物碱类的制备，如从马钱子豆中提取番木鳖碱或从金鸡纳树皮中提取奎宁；再有酶的分离，如凝乳酶，以及激素的分离，例如从动物中分离胰岛素。在过去这种操作非常重要，因为像盖仑制剂这种单纯来源于提取的产品是医生用药的主要来源。

无论提取的规模有多大，浸析是所选的两种方法之一。第一种方法，将原料放在容器中，形成渗透层，通过它渗滤溶剂或溶媒。想要的组分被溶解，溶液从渗透层底部流出。这种液体有时被称为杂油液，无用的固体则为滤渣。此种过滤方法叫做渗滤浸出。第二种方法为浸渍法，将固体浸渍在溶剂中搅拌。经过一定的时间，固体和液体分离。

1. 渗滤法

将粗碎的物料放在提取器中，其内部可控制提取温度。填料必须适当，否则溶剂会直接流过有限的滤层，此时渗滤效果较差。在大型提取器中，通过在滤床中间隔处放置水平的渗滤盘来阻碍或减少通路；这使渗滤液重新分布。

溶剂使干物料膨胀，降低了渗透层的透过性。这在含水溶剂中尤为明显。如果发生膨胀，那么在它装进提取器之前必须用水或溶剂润湿物料。

2. 浸渍

在制药过程中，在简易储液槽中通过浸渍进行渗滤时可以用涡轮或桨叶进行搅拌。如果固体混悬充分，那么各

相之间的直接接触会提高提取效果。避免由于沟流造成提取不完全，此时膨胀并不会带来很大麻烦。但是，随后的相分离会变得困难。用于浸渍渗滤的物料通常粉碎得很细或者是可压缩的粗块。当搅拌停止时，固体将沉降下来，渗滤液可以用虹吸法吸取或者由装在储液槽中的管道泵出。但是，沉淀中还包含有大量的渗滤液，需要用新鲜的溶剂使其再混悬，当固体沉积后倒出上清液。滤饼过滤是分离的另一种方法。用新鲜液体置换滤饼中的渗滤液。在某些情况下，过滤器既可用作提取，也可用于分离。

3. 溶剂

理想的溶剂便宜、无毒、不易燃，具有高度选择性，即只溶解想要的成分。黏度要低，易流过固体层。如果得到的溶液用蒸发进行浓缩，溶剂要有较高的蒸气压。水、乙醇以及两者的混合物被广泛使用。但两者均不具有选择性，可滤取不同比例的树胶、黏液和其他不想要的组分。药学领域使用的酊剂和液体提取物相对简单，用水或水和乙醇混合物提取杂质。酸化的或碱性的水和乙醇混合物已用于从捣碎的胰脏中提取胰岛素。更具选择性的萃取溶剂为石油类溶剂、苯及相关溶剂。在许多纯生物碱的制备中，粉末状材料用碱性溶液润湿，填充到底座中，用石油渗滤。由于少了树胶，随后的分步结晶纯化将变得相对容易。在渗滤中也会用到丙酮和氯化烃。在某些情况下，想要的组分的特性可以确定一种特定的溶剂。例如，用氢氧化钾溶液可以很容易地从丁香中提取丁香酚。

4. 渗滤速率

无论采取何种方法，渗滤由许多连续的扩散或传质过程组成。首先，溶剂浸透原材料，溶解可溶性成分。这种扩散沿着与固体基质表面相反的方向，透过固体表面的液体层到达本体溶液中。这些过程受总浓度梯度的影响，在本体溶液中浓度一般是最低的。任何一个过程都会限制渗滤的速率。但是，制药渗滤过程中，固体基质通常为胞状结构，这种结构是扩散阻力最大的结构。由于这种结构的复杂性，不能进行精确的传质过程分析。但是 Fick 定律表达的简单扩散概念表明下列因素影响渗滤：

- 渗滤粒子的粒径分布
- 渗滤的温度
- 溶剂的物理性质
- 固液表面的相对移动

5. 固体粒子的粒径和粒径分布

固体的粒径决定溶液和溶质在固体基质中必须扩散的距离。因为这种距离是主要的扩散阻力，通过粉碎减小粒径可以提高渗滤速率，也能有效增加浓度梯度。此外，粒径和表面积的反相关需要增加基质和周围液体的接触面积。因此，溶质在界面的转移变得相对容易。减小粒径带来浸渍渗滤法的另一个优点即细小的粒子容易悬浮。最后，碾磨会使大量的细胞破碎，允许溶剂和溶质直接接触，溶解和扩散更加迅速。

但是，粒径减小有其不利的一面。通过浸透滤取需要形成一个可渗透层。低渗透性使流速和提取率降低。渗透性与粒径及孔隙率的关系很复杂。其中粒径决定空隙如何在层内分布。空隙的分布由较大直径的少数孔道组成，即如果粒径较大，渗透层具有较高的渗透性。在浸渍滤取法中，随着粒径的减小，分离固体和液体的难度将增加。

对抗因素暗示任何一种具体提取法都有一个最佳粒径。固体的物理性质在某种程度上决定最佳粒径。密实的木质结构可以以细小粉末的形式萃取，吐根树的根就是一个例子。而对于多叶结构，以粗粉的形式可以获得满意的渗滤效果。

孔隙率和渗透性受粒径分布的影响。如果粒径分布较窄，可以确保较高的孔隙率。另外，小粒子会填充较大粒子接触产生的间隙。因此，碾磨后有必要筛分产物并去除细粉。细粉然后与其他批的细粉合并，然后进行个别提取。粒径分布较窄的另一个优点是均匀填充并营造的规则细孔和中部系统。这促使溶剂和溶液均匀流过固体床。

6. 温度

在确保期望组分热稳定的前提下，采用较高的萃取温度。大多数材料的溶解度随温度的增加而增大，这样能有较高的溶质浓度和较高的浓度梯度。增加溶解度和扩散系数导致更高的萃取率。但是在多数情况下，材料易热降解，必须使用冷萃取法。此外，在高温下会削弱溶剂的选择性。用煮沸的乙醇萃取萝芙木生物碱就是用适当高温提取的例子。

7. 固液表面的相对移动

在细胞基质中往往存在主要的、控制溶质扩散到本体溶液中的阻力。因此，增加流过表面的溶液的流速不会明显影响萃取的速度。这显然与溶解和结晶的过程相反。但是，上述两种常用方法中溶剂移动是被动的。

在液体浸透固体层的过程中，溶质通过分子扩散和由溶解作用产生的密度变化引起的自然对流从固体表面传质到间隙的液体。这些过程虽然缓慢，但远大于相同浓度差下在基质中的传质。因此，颗粒外液体的浓度梯度非常低。在固体层的任一点，稀溶液从上面流入，浓溶液从下面流出，通过稀释或置换降低了间隙浓度。这种作用可简单地认为是减少固液交汇处的溶质浓度，因此在基质间产生了有利的浓度梯度。

应用

为了方便药物剂型的生产，这里描述的操作过程都是综合的。下面的例子将讲解这些操作在主要制药装置中的应用。选择它们用来解释单元操作在药物生产中的广泛应用。单一的过程与每个剂型都有关。在皮肤用药、鼻内和吸入产品，以及其他制剂范围中的应用不少于所举的例子。然

而，不同的剂型的大多数操作及其基本原理[11]是相似的。

1. 注射产品

计划用于各种皮下和黏膜下部位注射的产品[46]，其生产过程可以定义为在特定环境或特定条件下的一系列连续操作。图 6 说明了这些过程的组合顺序。这个流程图表明了单元操作与配料的物理有机化学的关系，随后为包装过程。

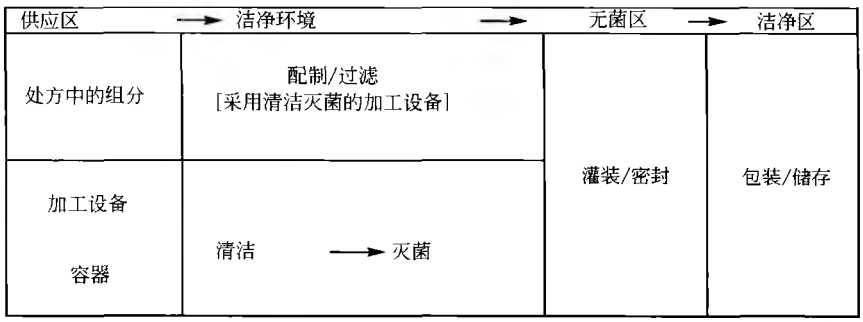


图 6 无菌注射剂生产过程的流程图

2. 固体剂型

大多数固体剂型都用于口服。药物从剂型中释放到达吸收部位或在胃肠道内起效。

除了以上描述的过程外，片剂的生产还需其他过程。因为这些过程在药物制剂生产中较为少见，因此仅在此简单讨论。

2.1 制粒

继颗粒粉碎和混合之后处方可以制成颗粒[47]，这使药物在混合物中分布均匀。此外，有助于改善粉末的流动性和压缩性。大颗粒由原始颗粒制备，原始颗粒通过浆液（使用上述的技术）干燥或由制粒溶液喷雾获得。图 7 介绍了一种顶端喷雾制粒机。另一个可选方法（图 7）是利用螺杆对滚筒间的混合物加力，从而形成可崩解成大颗粒的压缩固体[48]。

制粒是从将粉末转移到混合机中并混匀开始的。先加入制粒溶液，然后开始粗磨或湿法制粒。最后，干燥产品并碾磨成合适的粒径。

2.2 压制

在可移动的活塞或冲头上面有圆筒或模圈，将组分混合物置于圆筒或模圈中制得压制的固体、片剂或囊片（caplet）。上冲达到活塞顶，压力施加于冲头末端将粉末压实（图 7）。压制的产品质量取决于作用于待压制粉末的黏聚力。在处方中该黏聚力受所选辅料的影响。评价片剂生产的一种方法是考虑施加的压力对压制粉末孔隙率的影响[49]。获得的数据可以做成孔隙率的负自然对数对施加压力的 Heckel 图[50]。曲线的斜率与屈服值（ϕ，弹性极限）成比例，为 $1/3\phi$。

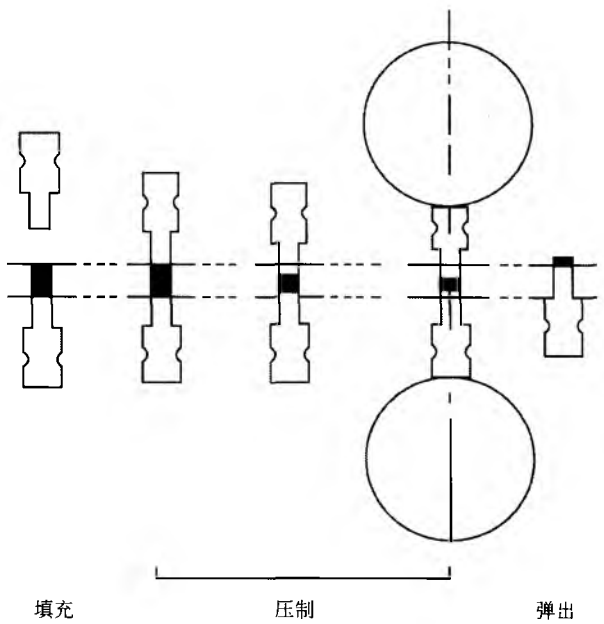


图 7 压片的操作次序

3. 生物工艺

在药品生产中应用生物技术越来越重要，因此这些技术在单元操作的规划中需要特别关注。生物工艺可看作是小规模的生物反应器或发酵罐，并将这些过程转换成大规模有经济活力的生产操作[51,52]。

生物工艺决不是一个新领域。现在这个领域成为热门是因为科学家对将离体细胞和微生物作为生产工具的兴趣越来越大。有充分理由证明在一千年以前这项技术就已用于葡萄酒和啤酒的生产。最近，将减弱的微生物或分离出来的抗原物质用于接种疫苗，使这种技术进一步得到发展。最近十年，对基因工程和某些微生物的遗传密码操作技术的兴趣已引发了药品生产领域的大变革。

4. 生物反应器

生物工艺过程同其他药剂生产操作的主要差异是需要

Y

生物反应器（图 8）。这些生物反应器可能需要利用细菌、酵母菌、昆虫或哺乳动物细胞表达蛋白质。描述生物反应器的各个组件及其转换很难。一些最简单的生物反应器例子见图 9。

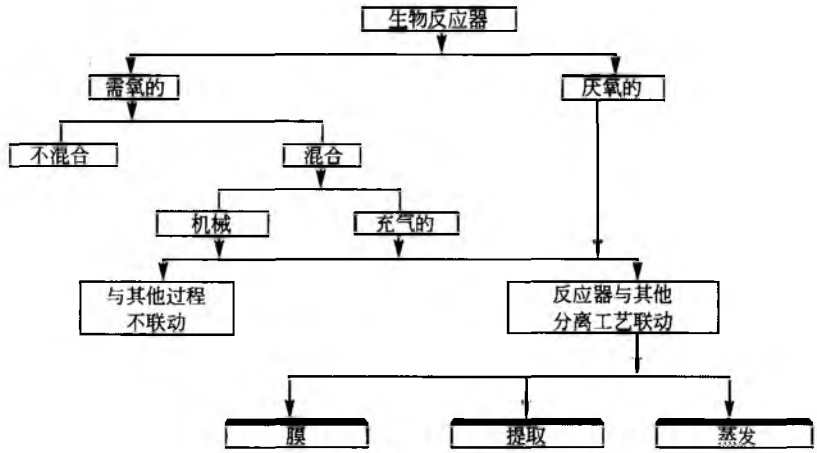


图 8 生物反应器类型的图示

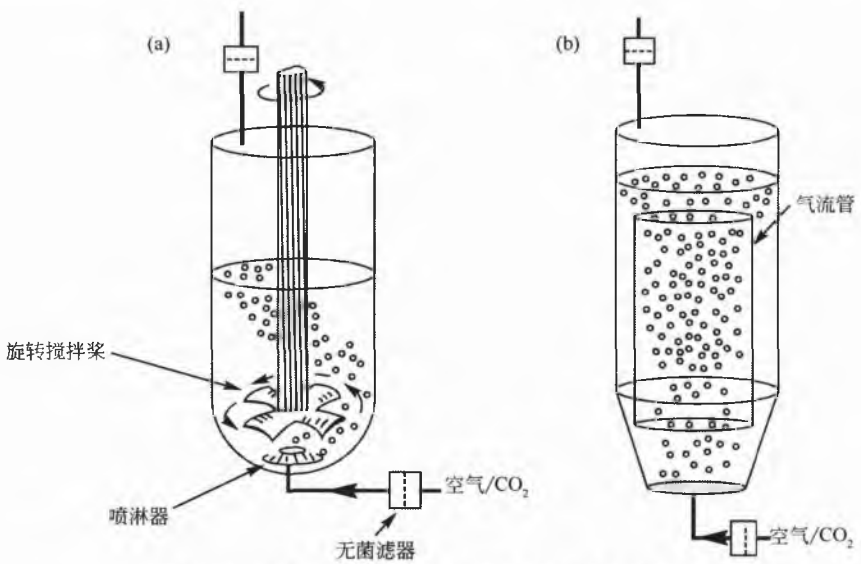


图 9 生物反应器。(a) 搅拌釜反应器；(b) 气升式发酵罐

结论

药品生产过程由许多单元操作组合而成。本章描述了主要的过程。简要概括了这些过程在注射剂型、固体剂型和生物材料生产中的应用。

生产的效率、产品质量和经济效益取决于对工艺所涉及到的单个操作的了解。在多数情况下，不像其他的工业操作，单元操作可能会影响治疗药物的安全性和有效性。本文提供了单元操作在药学实际应用方面的指南或介绍。

参 考 文 献

1. Ganderton, D. ; Hickey, A. J. Unit Process in Pharmacy: Fundamentals. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J. , Boylan, J. C. , Eds. ; 1st Ed. ; Marcel Dekker, Inc. : New York, 1996; 15, 341—398.
2. McCabe, W. L. ; Smith, J. C. ; Harriott, P. Unit Operations in Chemical Engineering; 5th Ed. ; Ind. McGraw-Hill, Inc. : New York, 1993.
3. Hickman, K. C. D. Commercial Molecular Distillation. Eng. Chem. 1947, 39, 686.
4. Ives, K. J. Proc. Inst. Civ. Engrs. 1963, 25, 345.
5. Ives, K. J. Symposium: Interaction Between Fluids and Particles. Inst. Chem. Engr. 1962, , 260.
6. Maroudas, A. ; Eisenklam, P. Clarification of Suspensions: A Study of Particle Deposition in Granular Media.

Chem. Eng. Sci. 1965, 20, 867.
7. Salter, K. C. ; Hosking, A. P. Chem. Eng. Pract. 1958, 6, 487.
8. Dickey, G. D. Filtration; Reinhold: New York, 1961.
9. Suits, C. G. The Collected Works of Irving Langmuir; Pergamon: New York, 1961; 10, 394.
10. Hinds, W. C. Aerosols Technology, Properties, Behavior and Measurement of Airborne Particles; John Wiley and Sons: New York, 1982; 164—186.
11. Terjsen, S. G. ; Cherry, C. B. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1947, 25, 89.
12. Reist, P. C. Aerosol Science and Technology; 2nd Ed. ; McGraw-Hill, Inc. : New York, 1992.
13. Gaden, E. L. ; Humphrey, A. E. Fibrous Fitters for Air Sterilization. Design Procedure. Ind. Eng. Chem. 1956, 48, 2172.
14. Stairmand, C. J. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1950, 28, 130.
15. Hesketh, H. E. ; El-Shobokshy, M. S. Predicting and Measuring Fugitive Dust; Technomic Publishing Co. , Inc. : Lancaster, PA, 1985, 1—33.
16. Fuchs, N. A. The Mechanics of Aerosols; Dover Publications, Inc. : New York, 1964.
17. Humphrey, A. E. ; Gaden, E. L. Air Sterilization by Fibrous Media. Industr. Eng. Chem. 1955, 47, 924.
18. Cherry, G. B. ; McCann, E. P. ; Parker, A. The Removal of Bacteria from Air by Filtration: Application to Industrial-Scale Fermentations. J. Appl. Chem. 1951, I, S103.
19. Scott, M. W. ; Lieberman, H. A. ; Chow, F. S. ; Rankell, A. S. ; Johnston, G. W. Drying as a Unit Operation in the Pharmaceutical Industry. I. J. Pharm. Sci. 1963, 52, 284.
20. Scott, M. W. ; Lieberman, H. A. ; Chow, F. S. Pharmaceutical Applications of the Concept of Equilibrium Moisture Contents. J. Pharm. Sci. 1963, 52, 994.
21. Newitt, D. M. ; Na Nagara, P. ; Papadopoulos, A. L. Trans Inst. Chem. Engrs. 1960, 38, 273.
22. Ceaglske, N. H. ; Hougen, O. A. Drying Granular Solids. Indust. Eng. Chem. 1937, 29, 805.
23. Pearse, J. F. ; Oliver, T. R. ; Newitt, D. M. Trans. Inst, Chem. Engrs. 1949, 27, 1.
24. Shepherd, C. B. ; Hadlock, C. ; Brewer, R. C. Drying Materials in Trays. Evaporation of Surface Moisture. Industr. Eng. Chem. 1938, 30, 388.
25. Cooper, J. ; Swartz, C. J. ; Suydam, W. Drying of Tablet Granulations. J. Pharm. Sci. 1961, 50, 67.
26. Pikal, M. J. ; Roy, M. L. ; Shah, S. Mass and Heat Transfer in Vial Freeze-Drying of Pharmaceuticals: Role of the Vial. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1224—1237.
27. Nail, S. N. The Effect of Chamber Measure on Heat Transfer in the Freeze Drying of Parenteral Solutions. J. Parent. Drug Assoc. 1980, 34, 358—368.
28. Jennings, T. A. Discussion of Primary Drying During Lyophilization. J. Parent. Sci. Techn. 1988, 42, 118—121.
29. Dushman, S. ; Lafferty, J. M. Scientific Foundations of Vacuum Technique; 2nd Ed. ; John Wiley and Sons: New York, 1962; 48.
30. Ho, N. F. H. ; Roseman, T. J. Lyophilization of Pharmaceutical Injections: Theoretical Physical Model. J. Pharm. Sci. 1979, 68, 1170—1174.
31. Bond, F. C. The Third Theory of Comminution. Trans. Amer. Inst. Min. Metall. Engrs. 1952, 193, 484.
32. Holmes, J. A. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1957, 3S, 125.
33. Carey, W. F. ; Stairmand, C. J. Recent Advances in Mineral Dressing. Inst. Min. Metall. 1953, 117.
34. Heywood, H. Chem. Eng. Pract. 1957, 3, 8.
35. Gammage, R. B. ; Glasson, D. R. Crystal Changes in Vateritic Calcium Carbonate During Ball Milling. Chem. Ind. 1963, 1466.
36. Gregg, S. J. Trans. Br. Ceram. Soc. 1955, 54, 257.
37. Cleverley, B. ; Williams, P. P. Polymorphysm and Changes of Infrared Spectra of Barbiturates During Sample Preparation. Chem. Ind. 1959, 49.
38. Treasure, C. R. G. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1965, 43, T199.
39. Perry, R. H. ; Chilton, C. H. Chemical Engineer's Handbook; 5th Ed. ; McGraw-Hill: New York, 1973.
40. Dankwerts, P. V. The Theory of Mixtures and Mixing. Research 1953, 6, 355.
41. Lacey, P. M. C. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1953, 21, 53.
42. Train, D. Pharmaceutical Aspects of Mixing Solids. Pharm. J. 1960, 185, 129.
43. Lacey, P. M. C. Developments in the Theory of Particle Mixing. J. Appl. Chem. 1954, 4, 257.
44. Adams, J. F. E. ; Baker, A. G. Trans. Inst. Chem. Engrs. 1956, 34, 91.
45. Avis, K. E. ; Akers, M. J. Sterilization. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed. ; Lachman. L. , Lieberman, H. A. , Kanig, J. L. Eds. ; Lea & Febiger: Philadelphia, 1986; 619—638.
46. Boylan, J. C. ; Fites, A. L. Modern Pharmaceutics; 2nd Ed. Marcel Dekker, Inc. : New York, 1990, 491—538.
47. Carstensen, J. T. Heterogenous Systems. Theory of Pharmaceutical Systems; Academic Press: New York, 1973; 2, 223.
48. Doelker, E. Assessment If Powder Compaction. Powder Technology and Pharmaceutical Processes; Chulia, D. ,

Y

Y

Deleuil, M., Pourcelot, Y., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1994; 403—471.

49. Carstensen, J. T. Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Form; Technomic Publishing Company: Lancaster PA, 1993; 73.

50. Heckel, R. W. Density Pressure Relationships in Powder Compaction. Trans. Metal. Soc. AIME 1961, 221, 671.

51. Propkop, A.; Bajpai, R. K. Recombinant DNA Technology and Applications; Prokop, A., Bajpai, R. K., Ho, C., Eds.; McGraw-Hill, Co.: New York, 1991; 415—459.

52. Hofmann, F. K. Scaleup of Production and Purification of Cell Expressed Proteins. Pharmaceutical Biotechnology, Fundamentals and Essentials; Klegerman, M. E., Groves, M. J., Eds.; Interpharm Press: Buffalo Grove IL, 1992;, 138—164.

进一步阅读

Allen, T. Particle Size Measurement, 4th Ed.; Chapman and Hall: New York, 1990.

Andrews, G. A.; Kniseley, R. M.; Wagner, H. N. Radioactive Pharmaceuticals; US Atomic Energy Commission: Washington, 1966.

Ansel, H. C.; Popovich, N. G.; Allen, L. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 6th Ed.; Williams and Wilkins: Malvern, PA, 1995.

Avis, K. E. Process Engineering Applications Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1995.

Banker, G. S.; Rhodes, C. T. Modem Pharmaceutics, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990.

Carey, V. P. Liquid-Vapor Phase-Change Phenomena Hemisphere Publishing Corporation: New York, 1992.

Carstensen, J. Y. Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms; Technomic Publishing Co.: Lancaster, PA, 1993.

Cheremisinoff, P. N. Air/Particulate Instrumentation and Analysis; Ann Arbor Science: Ann Arbor, 1981.

Chulia, D.; Deleuil, M.; Pourcelot, Y. Powder Technology and Pharmaceutical Processes; Elsevier Science B. V.: Amsterdam, 1994.

Groves, M. J. Parenteral Technology Manual, 2nd Ed.; Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, 1988.

Groves, M. J.; Olson, W-P.; Anisfeld, M. H. Sterile Pharmaceutical Manufacturing; Interpharm Press: Buffalo Grove IL, 1991.

Hesketh, H. E.; El-Shobokshy, M. S. Predicting and Measuring Fugitive Dust; Technomic Publishing Company: Lancaster, 1985.

Hyman, D. Mixing and Agitation. Advances in Chemical Engineering; Academic Press: New York, 1962; 3.

Klegerman, M. E.; Groves, M. J. Pharmaceutical Biotechnology Fundamentals and Essentials; Interpharm Press: Buffalo Grove, IL, 1992.

Lachman, L.; Lieberman, H. A.; Kanig, J. L. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy; 3rd Ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1986.

Lefebvre, A. H. Atomization and Sprays; Hemisphere Publishing Corporation: New York, 1989.

Little, A.; Mitchell, K. A. Tablet Making, 2nd Ed.; The Northern Publishing Co., Ltd. Liverpool, 1963.

Masters, K. Spray Drying Handbook, 5th Ed.; Longman Scientific and Technical and John Wiley and Sons, Inc.: New York, 1991.

Mullin, J. W. Crystallization, 3rd Ed.; Butterworth-Heinemann: London, 1993.

Wert, C. A.; Thomson, R. M. Physics of Solids 2nd Ed. McGraw-Hill, Inc.: New York, 1970.

Mullin, J. W. Crystallization; Butterworth: London, 1961.

Pietsch, W. Size Enlargement by Agglomeration; John Wiley and Sons: New York, 1991.

Prokop, A.; Bajpai, R. K.; Ho, C. Recombinant DNA Technology and Applications; McGraw-Hill, Inc.: New York, 1991.

Tien, C. Granulator Filtration of Aerosols and Hydrosols Butterworths: Boston, 1989.

Van-Hook, A. Crystallization: Theory and Practice; A. C. S. Monograph No. 152 Chapman and Hall: London, 1961.

Weidenbaum, S. S. Mixing of Solids. Advances in Chemical Engineering; Academic Press: New York, 1958; 2.

（李 丁 译）

药用辅料测试：法规和临床前的观点

Paul Baldrick

Regulatory Affairs-Pharmaceuticals, Covance Laboratories Ltd., Harrogate, England

引言

药用辅料是在具有药理活性的药品处方中使用的添加剂，也可以将药品中有效成分之外的所有物料都看作辅料。辅料包括稀释剂、填充剂、黏合剂、抛射剂、崩解剂、润滑助流剂、着色剂、矫味剂、包衣材料、抛光剂、芳香剂、甜味剂、聚合物和蜂蜡等。据文献记载，制药工业中应用的辅料约有1300种。欧洲、美国和日本的药典[1~3]以及一系列的出版物[4~6]中记载了许多辅料的化学和制造（质量）方面的数据，但安全性（临床前）数据却非常有限。部分出版物[5,7]中记载了一般的安全性数据。FDA的非活性成分指南[8]、国家处方[9]和英国ABPI资料表[10]都收载有药物申请中所用辅料的标准。如果辅料达到了这些出版物收录的标准，新药处方辅料就可以得到注册机构的认可。大多数情况是如此，但是现存的数据可能有缺陷，需要进行进一步的临床前评估。药物处方中使用新的辅料必须进行临床前测试和评估。考虑到关于药用辅料国际仍没有统一的指导方针，本章提出了对全新的、本质类似的以及已有的辅料进行临床前评估的策略，另外还阐述了辅料在引起患者的副作用以及在调整活性成分释放方面的作用。

法规和指南

从国际管理机构的角度来看，现在提出把辅料当作独立的实体来注册毫无帮助，而且现在还没有作为独立实体而获批的辅料[11]。在欧洲，新的辅料被当作全新的化学实体[12~14]评估。只有已有的辅料在药典中的性质描述通过了欧洲管理机构的认可时，它们才可以出现在新药上市许可申请（MAA）中。MAA申请需要有相关辅料的信息[15]。美国食品药品监督管理局（FDA）把评估和批准辅料作为新药申请（NDA）的一部分。欧洲认为经过批准的辅料才可以在新药处方中使用。因此FDA从商业角度考虑，倾向于使用已经批准的辅料[16]。有趣的是在美国有关提交新药申请时的临床前数据指南中并没有涉及辅料[17]。尽管日本相关的指南中没有提到辅料[18]，但其实际情况与欧洲和美国相似。在日本健康福利省（JMHW）的新评估体系（1997年开始运作）下，由药物和医疗器械评估中心（PMDE）对含有已在日本使用的辅料的药品进行审查。对含有未在日本使用过的辅料的药品，需要中央药事委员会的药用辅料小组委员会和PMDE中心同时进行审批[19]，并且需要提交使用此辅料的原因、使用的先例、质量、稳定性和安全性数据等。

由于缺少国际管理指南，1991年成立了由欧洲、美国、日本组成的国际药用辅料理事会（IPEC）。该工业组织提倡辅料国际标准化，支持引入有用的新辅料，并且提倡建立安全评价指南。目前该组织已经发表了主要给药途径的指南[16]。IPEC将提出的这些安全指南提交FDA，希望有一种独立于NDA之外的评价新药用辅料的程序[20]。

欧洲药品标签和包装说明书理事会最近发布了一项指南，着重指出在所有MAA[14]中，公司应该全面地考虑新药处方中的辅料类型。该指南指出在所有注射剂、局部用药、吸入和眼部用药制剂的标签中必须列出全部的所用辅料。对于其余药品，只有含指南中列出的（提到了40多种材料）确定的并且已知作用的辅料时，才必须在标签中注明。药物的包装说明书中应列出使用的所有辅料。欧洲条例和指南[12,13,21]要求在新药处方的药品性质综述（SPC）文件中，必须对辅料做全面的阐述。在日本，非活性成分的名称和数量必须在口服、注射、皮肤和黏膜用药的包装说明书或相似材料中标明[22]。

而在美国情况却不同。尽管已有两个主要的制药联合会（专利药协会和制药工业协会）已经采用了在标签上标注非活性成分的做法，但这种做法目前仍然是自愿行为[23]。这可能是因为辅料不享受专利保护，所以公司不愿意公布产品的详细信息。因此全面公开辅料的信息并不是广为接受的做法，甚至会招来反对[24]。FDA指出在人用处方药标签的禁忌证和注意事项中，应该清晰地标明对新生儿和儿童表现出增加毒副作用的非活性成分（辅料）[25]。

在欧洲，在临床前阶段，任何一种新的抛射剂的安全说明都有一定的标准（但不详细）[26,27]。疫苗指南将辅料（包括稳定剂在内的非活性成分）、佐剂和防腐剂一起看作添加剂，并指出要对其进行安全评估，但同样没有细节。最近欧洲一项关于药物开发的法规指南指出：除已批准用于食品和局部使用的化妆品的物质外，药品中的任意一种新物质都必须当作一种新的活性成分来对待。通过非常规途径或者大剂量给药时，需要补充另外的数据[29]。尽管这些用词可能会简化一些常用的非药用材料所需数据，但同时在欧洲，新的辅料不太可能不被作为新的化学实体来对待。

分类

1. 新辅料

新辅料是指以前未在药物制剂领域使用或者获准使用的化合物[16]。把辅料作为新的化学实体来处理，不仅增加了费用而且可能造成时间的推迟（与有活性的新药处方相

Y

比，辅料在评审方面没有优先权），这使得制剂工业不愿意引入新材料。事实上如果一种辅料的安全性存在问题，药品生产商宁愿更改处方，也不愿意推迟注册时间[11]。此外虽然含有新辅料的药品药效可能会增强，但是为了避免耽搁申请流程，造成了在这一领域的研究不足[19]。对1964～1984年NDA中使用的12种最常用辅料（水、硬脂酸镁、淀粉、乳糖、微晶纤维素、硬脂酸、蔗糖、滑石粉、二氧化硅、明胶、阿拉伯胶和磷酸氢钙）进行的调查表明：其中6种于1904年开始使用，到1949年已经占领辅料的大部分市场[30]。英国批准的药物中最常用的辅料为水、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯酮、氯化钠、硬脂酸、葡萄糖[31]。1992年Strattan报道在过去的50年里没有一种新辅料真正获得普遍使用[32]。20世纪90年代环糊精的出现以及最近批准使用的吸入抛射剂氢氟烷（HFA）并不能改变这种现实。美国的制药公司对他们的新药普遍采用了“祖父级的材料”（使用旧的“未经批准”的药物处方），从而妨碍了辅料领域的进展。

如上文所述，IPEC已经提出了对新辅料进行安全评估的指南，人们希望这些指南的实施能加快评审机构对提交新辅料的审查过程[16]。表1对IPEC指南做了总结。它规定了人服用单剂量或者有限剂量（少于2周）、有限和重复剂量（2～6周）和长期剂量（多于6周）的测试策略，同时也规定了关于人口服、黏膜给药、经皮给药、局部给药、注射用药、吸入/经鼻给药以及眼部用药方面的不同测试策略。一般推荐的人体长期用药毒性研究包括急性口服和皮肤毒性研究、眼部和皮肤刺激性研究、皮肤过敏性研究、遗传毒性和药物的吸收分布代谢与排泄（ADME）研究、亚急性和长期研究和生殖研究。虽然这些指南带来了一些问题，但它们作为依据对开发新辅料非常有帮助。这些指南的依据是已知辅料惰性，所以它的安全评估步骤不应该和有活性的药物一样复杂和深入。但是指南规定的辅料的评估程序却和有活性的药物大同小异。并且急性的皮肤刺激性和敏感性研究并不是新药评估的常规项目，只有当这类药物存在特殊的问题时才进行这些方面的研究。最后并且最重要的一点，如果制药公司开发的药物处方中含有一种全新的辅料，可能需要在临床前研究中把辅料当作一种额外的剂量组单独包含进来。该研究很可能使用临床用处方（含辅料）。动力学研究能够确认药物-辅料间的相互作用，这一点很重要。与活性药一样，需要一种灵敏的分析方法用来分析毒理学研究中血浆样本中辅料的含量（如果可能的话）。如果新辅料的纯度存在问题，则要对每一种杂质做单独的毒理学研究。阐明辅料的杂质性质非常重要，因为即使像硬脂酸镁这样的药典列出的材料，也会在杂质的安全性和毒性方面存在问题[33]。

表1 辅料指南的总结[16]

测试	人体吸收途径						
	口服	黏膜	经皮	局部	注射	吸入/经鼻	眼部
附录1（基准）							
急性口服毒性	R	R	R	R	R	R	R
急性皮肤毒性	R	R	R	R	R	R	R
急性吸入毒性	C	C	C	C	C	R	C
眼刺激性	R	R	R	R	R	R	R
皮肤刺激性	R	R	R	R	R	R	R
皮肤过敏性	R	R	R	R	R	R	R
急性注射毒性	—	—	—	—	R	—	—
应用部位评价	—	R	R	R	R	R	—
肺部过敏性	—	—	—	—	—	R	—
光毒性	—	—	R	R	—	—	—
细菌基因突变	R	R	R	R	R	R	R
染色体损伤	R	R	R	R	R	R	R
拟用途径的ADME研究	R	R	R	R	R	R	R
28天毒性试验（2种动物拟用途径）	R	R	R	R	R	R	R
附录2							
90天毒性试验（大多合适的动物）	R	R	R	R	R	R	R
致畸（大鼠/家兔）	R	R	R	R	R	R	R
附加的测试	C	C	C	C	C	C	C
遗传毒性测试	R	R	R	R	R	R	R
附录3							
长期毒性（啮齿动物，非啮齿动物）	C	C	C	C	C	C	C
单代生殖	R	R	R	R	R	R	R
光致癌性	—	—	C	C	—	—	—
致癌性	C	C	C	C	C	C	—

注：测试的程度取决于给药条件和持续时间：附录1给药时间小于2周，附录2给药持续时间为2～6周，附录3则大于6周。R代表要求；C代表有条件的。

日本 Uchiyama 最近就新辅料的安全评估发布了要求[19]。这些要求包括进行急性、亚急性和长期毒性、致突变性、对生殖的影响、依赖性、抗原性、致癌性和局部刺激性（人体贴剂）的研究。前五项测试是强制性的。日本国内试验需要做局部刺激性测试，但若日本国外的数据缺少这项测试，则可以接受。即使一种材料在日本国外已经应用于药品生产中，并且海外也有可供新药申请的相关数据，但只要它以前未曾在日本使用过，就会被当作一种新的辅料来处理。有时即便是已经获得批准投放日本市场的材料，若改变给药途径，或者所用剂量水平超过以前所用剂量，也都会被当作新辅料[19]。

尽管吸入抛射剂 HFA 没有被当作典型辅料，但是近年来它已经获准在美国和欧洲使用。蒙特利尔议定书中提出了臭氧层遭破坏的问题，与会者一致认为迫切需要将哮喘患者使用的定量吸入剂（MDI）中的氟氯烷烃（CFC）物质替换掉，因此欧洲开发了两种 HFA（134a 和 227）来替代[34,35]。20 世纪 90 年代早期到中期，这两类化合物经历了广泛的临床前测试。从原有的含 CFC 的药物转变为含 HFA 的药物，需要进行毒性桥联研究（toxicity-bridging study）。从法规的角度来看，这些研究的持续时间可能是 1 个月，也可能是人的一生。最近美国一个出版物公布了许多临床前的研究，其中包括用 HCFC 和 HFC 代替 CFC 的致癌性试验[36]。研究数据显示新的辅料 HFA-134a 和 HFA-227 在体内与被它们替换的 CFC 一样安全[37,38]。以 HFA 为例，即使是在政府的压力下对处方进行改进，研发新的辅料仍然需要相当长的时间和精力。

在吸入药物使用的新材料的研发方面，Wolff 和 Dorato 提出要对多种候选的辅料在不同处方中进行急性或短期毒性的研究[34]。该过程使最后能接受全面的毒理学测试的材料减少到 1～2 个。在 FDA 药物评估和研究中心（CDER）的一项指南中也提出对新的吸入辅料的测试[39]。对于像新的抛射剂这样潜在吸入毒性未知的新辅料，要进行单独的完整的毒理学评估；对于全新的处方，还要进行动物的桥联研究。一般而言，这些研究项目已经足够通过审批。

2. 本质新辅料

本质新辅料包括已经获得“批准”的辅料和食品添加剂的结构修饰物、公认的食品添加剂以及非处方药成分。食品添加剂和辅料有相似之处，比如它们都被用于特定的功能性质，而且使用的量比较少[16]。联合食品和农业组织（FAO）和 WHO 专家委员会（JECFA）等国际组织为许多食品添加剂（包括已经作为辅料使用的材料）制定了安全标准，比如每日允许摄入量（ADI）、“一般认为安全的”（GRAS）。对这些添加剂的安全评估包括详细的风险评定过程，在该过程中计算 ADI 值时，将实验动物的 100 倍量以上的因子作为安全界限。

虽然法规指南中没有指出，但若许多食品添加剂的安全性通过了 JECFA 评估和人体长期接触测试，则不用大量的安全性临床前测试，可以直接在药物处方中作为新的辅料应用。FDA 确实偏好商业中已经应用的食品添加剂和 GRAS 物质[16]。但是因为等待批准的时间可能会很长，而且食品添加剂数据只和口服给药有关，对于非口服给药的药物来说毫无用处[11]，所以在这些方面存在限制并需要巨大的资金投资。

另外，如果评估所用的临床前数据已经过时且不可信，就会出现问题，并且带来特定的毒理学隐患。综合考虑，只有对食品添加剂现有的临床前和人体接触数据做一个全面的专家评审，才可能令审批机构满意。如上文所述，欧洲规定已经应用于口服的食物或者局部使用的化妆品的新型药用辅料，可以不被当作新的化学实体来对待，因此可以避免进行全面的评估[29]。

如果食品添加剂作为新型辅料使用的浓度高于 ADI 值，或食品添加剂和现存辅料的结构发生改变（即使只是简单的改变），就可能引发别的问题。新材料可能有不同的甚至增强的毒性。对于制药公司来说，解决这些问题绝非易事。管理机构的回答是每一种材料的评估是分别对待的。一些临床前测试是必须进行的，图 1 中给出了所需的最少测试项目。在这些项目中，埃姆斯试验可以确定新的辅料是否具有遗传毒性，单剂量毒性研究可以表明制药工业中最大量地使用该材料后有无副作用。研究质量、平衡、全身放射自显影术，可以得到吸收、分布、代谢、排泄方面的信息。该研究还涉及材料标签适当与否。为比较改良后的食品添加剂和辅料在大鼠和人体降解过程的不同之处，可以进行体外代谢研究（比如大鼠和人肝细胞）。

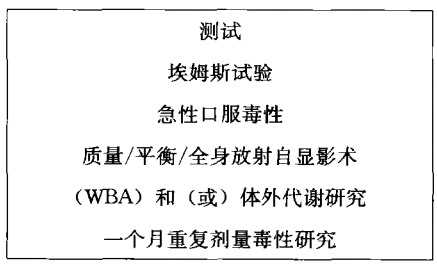


图 1 本质新辅料需要进行的最少的临床前测试

一个月的毒性研究就可以确定最大剂量是否会引起任何形式的高剂量毒性或者代谢超负荷。在这类研究中，毒代动力学卫星动物可以用以显示血液中辅料的浓度水平。研究中有利的结果将提交评审机构，用来咨询是否需要进行其他的测试。和药物开发中其他临床前研究一样，所有这些研究都必须遵循药品良好的实验室管理规范（GLP）。

在美国，OTC 无需获得管理机构批准提交 NDA，因此如果一种辅料有在 OTC 药品中使用的安全记录，并且药品制造商能够提供该辅料可安全使用的证据，那么 FDA 就可能会认可这种材料[11]。但是这种批准方式不一定保证会成功，并且很可能不适用于非口服给药途径。

在日本，所有可以减轻引入新型辅料负担的途径都比较复杂。口服的食品添加剂和外用的化妆品材料，只要未经批准作为药用辅料使用，就必须当作新型辅料来处

理[19]。对于已经在口服或静脉注射药物中使用的辅料，如果要改为外用，必须进行附加的安全测试，包括急性和亚急性毒性（包括透皮吸收）和局部刺激性研究[19]。

在过去 15 年中，在无糖药物制剂中使用的许多药用辅料，很可能属于本质新辅料。在明确了饮食摄入蔗糖量和龋齿发病率的关系后，要求引入这类辅料[40,41]。这类物质包括甜味剂和增甜剂，前者包括糖精、环己氨磺酸盐等，后者如多元山梨糖醇、木糖醇和拉克替醇等。所有这类材料要么已经获准在食品中使用，要么收载于现行的或正在起草的药典专论中[42]。查阅文献可以发现该类材料有多项临床前安全性研究报道。其中大部分的研究与特定的毒理学有关，比如膀胱肿瘤的形成与使用糖精的关系，使用多元醇与肾上腺和睾丸增大的关系（表 2）。

表 2 多种辅料的毒理学

辅料	毒理学发现	与人体的相关性	参考文献
乳糖和多元醇	导致大鼠肾上腺素增殖/肿瘤	大量给药造成钙平衡紊乱，只存在大鼠体内，与人无关	[43～45]
	大鼠体内形成肿瘤	同上	[46]
糖精	雄性大鼠膀胱上皮增生	大剂量使用时与种属有关，作用机制可能因为人体内正常情况下不含尿蛋白	[23，40] [47～79]
PVP	在啮齿类动物网状内皮系统中积聚，并出现“泡沫细胞”	文献中毒理学发现不明，可能与大剂量使用有关。人体内未出现长期副作用，PVP 已经安全使用超过 50 年了	[50～52]
甲醇	豚鼠身上有少的过敏反应	文献中毒理学发现不明，但很少有甲醇引起的人过敏反应报道[8]	[53]
柠檬烯	雄性大鼠肾脏中有透明小滴形成	只发生在雄性大鼠体内，且与 2μ-球蛋白积聚有关	[54～56]
滑石粉	雌性大鼠出现肺部肿瘤	与大剂量使用有关，并引起长期毒性	[57]
	大鼠体内出现肾上腺肿瘤（嗜铬细胞瘤）	回顾数据表明肿瘤与治疗无关	[57]
糊精-麦芽糖复合剂	在大鼠长期吸入研究中发现 4%糊精-麦芽糖复合剂可以引起对喉部轻微可逆的刺激（鳞状化生）	对人类无影响，可能与制剂中的辣薄荷油有关[1),2)]。患者服用含辣薄荷油的制剂时出现对口及食管的刺激	个人观察
CFC	狗身上可观察到明显的心律失常	安全范围广，定量吸入器中 CFC 在抛射剂中的广泛使用证明了该化合物的安全	[34]

1）据报道在大鼠长期使用乳糖，也可观察到轻微的喉部鳞状化生[58]，可能与长期吸入微粒粉尘引起的生理适应性反应有关。呼吸组织上皮的一定程度的改变被认为是适应性且无毒的[59,60]。

2）辣薄荷油中含有大比例的甲醇（30%～50%）[1]。近来在大鼠的一项长期吸入研究表明 5000ppm 甲醇并不会引起呼吸道组织病理学的实质改变，这种改变往往是由大量吸烟造成的，这说明喉部刺激与辣薄荷油中的甲醇有关的说法是值得怀疑的。

环糊精（CD）为一种本质新辅料，是一种酶变性淀粉，作为辅料有许多优秀的性质。CD 于 20 世纪 70 年代晚期和 80 年代开始在食品行业中使用，经过大量的临床前测试，得以应用于药品并投放市场[32,62]。现在多家公司把 CD 当作活性药物安全有效的输送系统投入市场。

3. 获准的辅料

新药处方中出现的众所周知已获得批准的辅料，并不一定意味着管理当局不会对此提出质疑。但是如果在资料的质量和临床前部分清晰地描述出辅料性质的话，就可以避免这些事情。临床前评估可以采用这样的形式：专家回顾已有的安全数据，结合文献中报道的数值和新药处方中的使用量，定义安全阈值。发表过的文献或者内部刊物中对获批辅料的相关数据越多，毒理学家研究的过程就会越简单，如对乳糖[58]、聚乙烯吡咯酮（PVP）[50,63]、糖精[64]、聚乙二醇（PEG）[65]、HFA-134a[66]和疫苗的辅料[67]的研究等。与此相似的是，主要药典全球标准化专论的确立对此也大有裨益。但是令人吃惊的是：许多如糊精-麦芽糖复合剂、薄荷油和薄荷醇等众所周知的物质，它们现有的毒理学数据非常少。

当发表的数据提示辅料有潜在的毒理学问题时，尤其是被批准为一种给药途径使用的辅料改为另一种途径，有不同的系统暴露并且靶器官不同时，经常产生问题。需要对动物数据和人体数据的相关性以及安全阈值的建立进行科学的探讨，含辅料的新药临床前研究无毒性的结果也可以用于该项讨论。表 2 中列出了一些已报道有毒性的获准辅料和这些发现与人相关性的例子。当新药处方中辅料的用量超过了管理机构获知的以前用量时，也要进行相关的

讨论。

另外一个不太重要但却有趣的情况是：大多数获准的和药典中收载的辅料都没有严格的标准分析方法。在这种情况下，拥有新药处方的公司需要建立新的鉴别和测定辅料血浆浓度的分析方法。

以上的讨论说明对于熟知的辅料基本不需要进行临床前研究。De George 和他的同事在吸入剂辅料方面认同这个非官方的 FDA 观点[39]。De George 和他的同事指出对于性质稳定、无毒并应用于批准的吸入剂的辅料来说，质量或数量上的改变无需再给出其余的毒理学信息。但是当改变处方时，因为辅料的毒性可能会发生改变，所以需要根据具体情况进行评估。另外，对于曾经应用于人体但吸入毒性资料有限的辅料，建议重复给药后对辅料的潜在吸入毒性进行评估。

辅料的副作用

根据传统定义，辅料应该是惰性物质并且无药理活性。虽然同广泛存在的药物的副反应相比辅料的副作用并不常见，但是许多现有的辅料都存在临床方面的副反应。许多文献（如 [7]、[14]、[23]、[40]、[68～71]）较为详细地描述了这方面内容。表 3 中列出了一些例子。对辅料毒性敏感的群体包括出生时体重低的婴儿（尤其在生命的最初 2 周）和哮喘患者[69]。有趣的是大多数情况下，患者受到的由辅料引起的许多副作用是不能根据临床前数据来预测的。

表 3 多种药用辅料引起的副反应

辅料（用途）	主要的副反应	参考文献
苯扎氯氨（针对细菌的防腐剂）	具有能使软透镜褪色的刺激性，偶见过敏反应，支气管收缩	[7]，[14]，[23]
CFCs（抛射剂）	支气管痉挛	[23]
阿司帕坦（人工甜味剂）	头痛，多种精神紊乱，癫痫，偶见过敏反应。禁忌证为苯丙酮尿症患者	[7]，[23]，[40]，[70]
糖精（人工甜味剂）	偶见过敏，光过敏（与氨苯磺胺过敏症的患者有交叉过敏反应）	[7]，[23]，[40]，[70]
苄醇（防腐剂）	偶见接触性皮炎等过敏反应，毒性较大，婴儿和幼童慎用	[7]，[14]，[23]，[70]
乳糖（填充剂）	禁忌证为乳糖不足的患者（腹泻、腹痛）	[14]，[58]
丙二醇（增溶剂）	中枢神经系统毒性，高渗性，乳酸性酸中毒，存在接触性皮炎等过敏反应	[7]，[23]，[70]
苯甲酸（防腐剂）	刺激性；可能会引起哮喘、荨麻疹、过敏反应、血管炎	[2]，[14]，[70]
乙醇（赋形剂）	刺激性/皮肤干燥。大剂量时禁忌证为肝病、癫痫患者、酒精中毒者、孕妇、儿童	[14]
多元醇（人工甜味剂）	腹泻	[14]，[58]
甘油（赋形剂）	头痛，胃不适，腹泻，血清渗摩尔浓度增加，心律失常	[7]，[14]
钠和钾（补充物）	低钠/钾饮食中存在副反应，胃不适、腹泻。注射钾时有注射痛，静脉炎	[7]，[14]
亚硫酸盐（抗氧剂）	过敏反应，如获得性过敏、支气管痉挛、胃肠道刺激或不适	[7]，[14]，[23]，[40]，[70]
胶质，如阿拉伯胶、西黄芪胶（乳化剂）	偶见过敏反应	[7]，[70]
聚氧乙烯蓖麻油-环氧乙烯蓖麻油（溶剂）	过敏性反应，反胃，呕吐，绞痛，高脂血症	[7]，[14]，[70]
偶氮染料，如柠檬黄（染料）	过敏性反应，禁忌证为对阿司匹林过敏的个体	[7]，[23]，[70]
三氯叔丁醇（防腐剂）	过敏性休克/ 过敏性反应，中枢神经系统毒性	[7]，[70]
甲醛（防腐剂）	变态反应，胃部不适，腹泻，发炎，可引起哮喘	[7]，[14]，[70]
氢氧化铝（佐剂/吸附剂）	铝的过敏反应，皮肤小结	[7]，[70]
甲基纤维素（稳定剂/助悬剂）	小肠不适	[7]
羟乙基纤维素（稳定剂/助悬剂）	眼部刺激	[7]
谷蛋白/小麦淀粉（黏合剂）	绞痛患者的不耐受性	[14]，[40]

欧洲要求在药品说明书中必须用友善的方式告诉消费者药品所含辅料的副作用[14]，日本要求必须给出组成成分的信息[22]。但在美国标注非活性成分仍然是自愿的行为，所以将来仍会有与辅料有关的副作用见报。Wong[24]强调药物可以多种剂型上市，如片剂、注射液和口服液等，每一种剂型都包含一系列不同的辅料，而药品包装中往往没有标注辅料，正因如此情况变得越来越糟。因为每一家公司都有权选择药物的辅料，而生产相同药品的不同厂家可能按照不同比例采用了不同的辅料。另外一个潜在的问题是药物处方中使用辅料的质量。次等的辅料可能会影响最终产品的质量，并影响其安全性和功效[24]。幸运的是药典对辅料质量实行标准化，保证了药品的功效，但是我们仍要牢记20世纪90年代中期海地使用伪辅料导致90个儿童死亡的案例[71]。

Chowhan[33]指出辅料生产商和使用者越来越多地关注由工艺改变带来的后果及其重要性。从医学角度看，惰性物质并不一定是无药理活性的，所以为了便于评估并且利于对症下药，要掌握全面的信息。当已知处方时，大部分与辅料有关的副作用是可以避免的[69,72]。但是从美国的药品制造商那里获得这些信息仍然是一个有待克服的难题[73]。记载药品制剂中已知辅料的文献对内科医生非常有帮助，当发生副反应时，它便于医生选择含不同辅料的药物[74,75]。

总之，即使在药物研发的早期阶段，也要重视辅料性质对最终产品的影响。如果计划使用已获批的辅料，必须考虑到对人体可能的副作用。开发中必须使用药典所列出的辅料。对于新辅料，没有相关信息，必须进行临床前的试验以测试其安全性。当新辅料与获批辅料属于同一类或者结构相似时，可以采用推断法判断其安全性，但是这样得到的信息不一定可信。

药物-辅料间的相互作用和辅料的活性作用

在许多药品中，药物-辅料间的相互作用可以在一定程度上影响药物的生理活性[76]，这说明所有的辅料都不是真正惰性或者无活性的。辅料可以通过加速或者延缓药物的释放，来增大或者降低药物的生物利用度，继而影响药物的治疗作用[24,69]。事实上辅料物理性质的轻微改变可以引起药物作用的巨大变化[5]。因而改善生物利用度也可能导致副反应的发生。在现代药物输送系统中，加入特定辅料的目的是为了使药物达到特定的生物利用度或者治疗作用[11]。近来脂质体（磷脂脂质体）被越来越多地用作新的给药系统，其中包括一些活性辅料，比如正在研发的PVP和PEG脂质体[77,78]。回顾文献可以发现20世纪90年代，在缓释制剂中使用辅料成为一种潮流。人们开始认识到一些有选择作用的官能团，比如结肠靶向。虽然现在已经熟知甲基纤维素等辅料在缓释片剂中的作用，但是含有活性辅料的新处方只在体外进行测试用以建立释放模型[5]。Naidoo[79]曾经讨论过辅料在控释剂型中的作用，但是回顾这些发展进程超出了本章讨论的范围。曾有关于活性辅料用于肽类药物和疫苗控释的报道[80,81]。这样的作用也许反映了美国药品法规中关于辅料的定义："在药品中不直接影响药理活性，只调节活性成分释放的物质。"[82]

新药的临床前和临床药动学研究可以反映摄入治疗剂量的处方后进入人体循环的各成分的量。因此即使获准辅料或新辅料之间存在相互作用，也可以进行充分的安全评估。但是必须向评审员指出已经考虑过处方中其余成分对药物活性可能的干扰作用，这点很有帮助。如果加入药物新剂型的辅料有一定的活性，那就必须详细讨论提出的作用机制。

总结和结论

药用辅料在药物处方中起着重要的作用。以前除了新药申请之外，没有别的方法可以评价辅料的安全性，所以它的作用往往被忽略了。现在如果包含一种辅料的新药物处方得到了评审当局的认同，那么就认为辅料也得到了批准。国际药典中列出的辅料和安全性数据已经公开的辅料都被认为已经得到批准。但是药品公司缺乏对全新和本质新辅料（后者包括获准的食品添加剂、进行过结构修饰的获准食品添加剂或者辅料、非处方药物的成分）进行测试所需的信息。现有的法规要求新辅料应该被当作新的化学实体来对待，因此需要经过全面的毒物学评估。日本和欧洲要求在患者的病历中必须有关于辅料的信息，但美国没有类似的法律方面的要求。

制药公司在引进新辅料时，必须在仔细评估使用新材料带来利益的同时，考虑到由此带来的额外的工作负荷、成本、可能的评审时间延迟甚至申请被拒绝。但随着现在人们对缓释制剂中辅料作用的认识，公司对新辅料的需求将越来越大。尽管政府要求将吸入剂的CFC换为HFA，但仍需要对抛射剂中的新辅料进行广泛的临床前评估，并需要等待通常的评审时间。用HFA-134a或者HFA-227作为新辅料应用于旧的含CFC的处方中的提案已经提交，目前正在审批过程中，并且需要进行桥连毒性的研究。CFC的变化可能会引起定量吸入器结构的改变，由此可能导致对处方（和其他辅料）进行改进。尽管FDA并没有做出回应，但IPEC发表的对新辅料的推荐安全评估很有帮助。建议的评估与对新化学实体进行的全套必需的临床前程序并不完全不同。如果制药公司决定引入一种新的辅料，那么大量的临床前数据是必需的。但如果临床前研究（类似图1所示）指出，大剂量使用时该辅料仍是安全的，则辅料可以以额外剂量组的形式作为处方的一部分参与药物研发的全部过程。对数据的专业评估应该指出任何潜在的问题。

开发一种本质新辅料的情况是不同的，因为这种物质或者相关物质的一些数据是已知的。假设这些数据由临床前研究（图1）提供并且通过了专家评审，且进行了通常的新药研究，那么评审专家应该会批准这种辅料。每一种辅

料都要根据不同的处方逐一进行分析，要仔细评估原来数据中的毒理学发现及使用辅料的持续时间。要考虑到由新辅料引起的工作负荷、成本的增加，以及由此带来的评审时间的延长。环糊精最初在食品中使用，然后开始药用。但是这个过程耗时多年并且进行了广泛的临床前测试。而糖精等最初在食品中使用的其他物质，在评审时遭遇了挑战，即临床前研究发现膀胱肿瘤可能与其在人体的使用有关。

获批的辅料也引发了一些评审方面必须注意的问题，包括已知的辅料在未获批准的途径使用（比如用于口服处方中的材料用于吸入）。在这些情况下，可能需要进行一些临床前毒性研究。另外需要对辅料的安全性数据做一个科学的全面回顾，并评估以前的发现。

辅料不是惰性物质，也不是无活性物质，它可能会影响药物的生物利用度并引发副反应（多见过敏反应），这意味着当构建新的药物处方时，需要对辅料进行更周密的考虑。考虑到这些情况，评审专家将在药物处方成分方面花更多的精力。而且因为国际上并没有要求向健康专家提供药物处方的详细情况（尤其在美国），所以副反应仍将陆续见报，使制药公司和评审专家遭受额外的压力。总之，在辅料开发中，缺少评审指南给药品公司造成了混淆。因为在药物研发的其他领域已经达成了国际共识，所以辅料测试策略将成为国际协调大会（ICH）的最佳议题。而且随着越来越多的药典物质标准化，国际药典的一个委员会可能会处理辅料方面的事宜。当选的专家将会对这些安全数据进行评估并将其发表，这些数据很可能得到国际管理机构的认可。

参 考 文 献

1. European Pharmacopoeia, 3rd Ed.; European Pharmacopoeia Commission, Council of Europe: Strasbourg, France, 1997; 1299－1300.
2. United States Pharmacopeia, 23rd Edn.; United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville MD, 1995.
3. Japanese Pharmacopoeia, 13th Ed. The Society of Japanese Pharmacopoeia, Yakuji Nippo Ltd.: Tokyo, 1996.
4. U. S. Physicians Desk Reference, 50th Ed.; Medical Economics Company, Inc.: Montvale, NJ, 1996.
5. Kibbe, A. H. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd.; The American Pharmaceutical Association, Washington DC; The Pharmaceutical Press: London, 2000; 336.
6. Smolinske, S. C. Handbook of Food, Drug and Cosmetic Excipients, CRC Press: Boca Raton, FL, 1992.
7. Reynolds, J. E. F. Martindale. The Extra Pharmacopoeia, 31st Ed.; Royal Pharmaceutical Society: London, 1996.
8. Inactive Ingredients Guide; U. S. Food and Drug Administration, Division of Drug Information Resources: Rockville, MD, 1996.
9. The National Formulary, United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 1995.
10. ABPI Compendium of Data Sheets and Summaries of Product Characteristics *1998 － 1999*; (For Irrigation with Peppermint Oil, See p. 981) Datapharm Publications Ltd: Whitehall, London, 1998.
11. Wotton, P. K.; Khosla, R. Acceptability of Excipients in the European Community and USA. BIRA J. 1991, 10 (7), 11－13.
12. Rules Relating to Marketing Authorisation of Medicinal Products for Human Use and Related Council Directives *81/852*/EEC, *91/507*/EEC and *92/18*/EEC plus Council Recommendations *83/571*/EEC and *87/176*/EEC; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1998.
13. Medicinal Products for Human Use, Presentation and Content of the Dossier. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Notice to Applicants; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1998; 2B.
14. Medicinal Products for Human Use, Safety, Environment and Information. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union, Guidelines; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1998; 3B.
15. Note for Guidance: EC Application Format; CPMP and DGIII Guideline III/3038/91, Commission of the European Communities: Brussels, adoptedMarch 1992.
16. Steinberg, M.; Borzelleca, J. F.; Enters, E. K.; Kinoshita, F. K.; Loper, A.; Mitchell, D. B.; Tamulinas, C. B.; Weiner, M. L. A New Approach to the Safety Assessment of Pharmaceutical Excipients. Regul. Toxicol. Pharm. 1996, 24, 149－154.
17. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry, Guidelines for the Format and Content of the Nonclinical Pharmacology/Toxicology Section of an Application. FDA: Rockville, MD, 1987.
18. Japanese Technical Requirements for New Drug Registration; Yakuji Nippo Ltd.: Tokyo, 1997.
19. Uchiyama, M. Regulatory Status of Excipients in Japan. Drug Inform. J. 1999, 33, 27－32.
20. British Institute of Regulatory Affairs BIRA News; Institute Update 84, 1992.
21. Note for Guidance: Summary of the Product Characteristics; Adopted October 1991 Commission of the European Communities, Brussels, adopted October 1991.
22. Japanese Ministry of Health and Welfare. Notice on the Indication of the Inactive Ingredients in Prescription

Y

Drugs; Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, Yakuji Nippo Ltd: Tokyo, 1988.

23. American Academy of Pediatrics, Committee on Drugs. "Inactive" Ingredients in Pharmaceutical Products: Update. Pediatrics 1997, 99 (2), 268—278.
24. Wong, Y. L. Adverse Effects of Pharmaceutical Excipients in Drug Therapy. Ann. Acad. Med. Singapore 1993, 22 (1), 99—102.
25. Specific Requirements on Content and Format of Labelling for Human Prescription Drugs; Revision of "Pediatric" Subsection in the Labelling. Federal Register:, 1994.
26. Note for Guidance: Replacement of Chlorofluorocarbons (CFCs) in Metered Dose Inhalation Products, CPMP and DGIII Guideline III/537/93, Commission of the European Communities, Brussels, adopted December 1993.
27. Matters Relating to the Replacement of CFCs in Medicinal Products, CPMP and DGIII Guideline III/5462/93, Commission of the European Communities, Brussels, adopted December 1993.
28. Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines, CPMP/SWP/465/95, EMEA: Canary Wharf, London, adopted December 1997.
29. Note for Guidance on Development Pharmaceutics, CPMP/QWP/155/96, EMEA, Canary Wharf, London, adopted January 1998.
30. Shangraw, R. Developments in Tablet Excipients Since 1960. Manufact. Chem. 1986, (December), 22—23.
31. Robertson, M. I. Regulatory Issues with Excipients. Int. J. Pharm. 1999, 187, 273—276.
32. Strattan, C. E. 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin. I. Patents and Regulatory Issues. Pharm. Technol. Int. 1992, 4 (4), 45—49.
33. Chowhan, Z. T. A Rational Approach to Setting Limit Tests and Standards on Impurities in Excipients. Pharm. Tech. Europe 1995, 7 (10), 66—75.
34. Wolff, R. K.; Dorato, M. A. Toxicologic Testing of Inhaled Pharmaceutical Aerosols. Crit. Rev. Toxicol. 1993, 23 (4), 343—369.
35. Maginley, R. The Transition to CFC-Free Metered Dose Inhalers (MDIs): Regulatory Process, Implications and Conundrum. BIRA, Regul. Rev. 1998, 7, 11—18.
36. Bakshi, K. S. Toxicity of Alternatives to Chlorofluorocarbons: HFC-134a and HCFC-123. Inhal. Toxicol. 1998, 10, 963—967.
37. Harrison, L. I.; Donnell, D.; Simmons, J. L.; Ekholm, B. P.; Cooper, K. M.; Wyld, P. J. Twenty-Eight-Day Double-Blind Safety Study of an HFA-134a Inhalation Aerosol System in Healthy Subjects. J. Pharm. Pharmacol. 1996, 48 (6), 595—600.
38. Blumenthal, M. N.; Casale, T. B.; Fink, J. N.; Uryniak, T.; Casty, F. E. Evaluation of a Nonchlorofluorocarbon Formulation of Cromolyn Sodium (Intal) Metered-Dose Inhaler Versus the Chlorofluorocarbon Formulation in the Treatment of Adult Patients with Asthma: A Controlled Trial. J. Allergy Clin. Immunol. 1998, 101 (1), 7—13.
39. De George; et al. Considerations for Toxicology Studies of Respiratory Drug Products. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 25 (2), 189—193.
40. Golightly, L. K.; Smolinske, S. S.; Bennett, M. L.; Sutherland, E. W., III; Rumack, B. H. Pharmaceutical Excipients. II. Adverse Effects Associated with "Inactive" Ingredients in Drug Products. Med. Toxicol. 1998, 3, 209—240.
41. Kinghorn, A. D.; Kaneda, N.; Baek, N. I.; Kennelly, E. J.; Soejarto, D. D. Noncariogenic Intense Natural Sweeteners. Med. Res. Rev. 1998, 18 (5), 347—360.
42. Herbert, K. Novel Excipients for Sugar-Free Preparations —Functionality and Performance. European Pharmaceutical Contractor, Ballantyne Ross Ltd: London, 1998; 132—139.
43. Bär, A. Sugars and Adrenomedullary Proliferative Lesions: The Effects of Lactose and Various Polyalcohols. J. Am. Coll. Toxicol. 1988, 7 (1), 71—81.
44. Roe, F. J. C. Relevance for Man of the Effects of Lactose, Polyols and Other Carbohydrates on Calcium Metabolism Seen in Rats: A Review. Hum. Toxicol. 1989, 8, 87—98.
45. Lynch, B. S.; Tischler, A. S.; Capen, C.; Munro, I. C.; McGirr, L. M.; McClain, R. M. Low Digestible Carbohydrates (Polyols and Lactose): Significance of Adrenal Medullary Proliferative Lesions in the Rat. Regul. Toxicol. Pharmac. 1996, 23, 256—297.
46. Bär, A. Significance of Leydig Cell Neoplasia in Rats Fed Lactitol or Lactose. J. Am. Coll. Toxicol. 1992, 11 (2), 189—207.
47. Cohen, S. M. Human Relevance of Animal Carcinogenicity Studies. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1995, 21 (1), 75—80.
48. Cohen, S. M. Cell Proliferation and Carcinogenesis. Drug Metab. Rev. 1998, 30 (2), 339—357.
49. Wysner, J.; Williams, G. M. Saccharin Mechanistic Data and Risk Assessment: Urine Composition, Enhanced Cell Proliferation, and Tumour Promotion. Pharmacol. Ther. 1996, 71 (1—2), 225—252.
50. Robinson, B. V.; Sullivan, F. M.; Borzelleca, J. F.; Schwartz, S. L. PVP: A Critical Review of the Kinetics

and Toxicology of Polyvinylpyrrolidone (Povidone), Lewis Publishers, Inc.: Chelsea MI, 1990.

51. Frommer, J. The Pathogenesis of Reticulo-Endothelial Foam Cells. Effect of Polyvinylpyrrolidone on the Liver of the Mouse. Am. J. Path. 1956, 32, 433—453.
52. Nelson, A. A.; Lusky, L. M. Pathological Changes in Rabbits from Repeated Intravenous Injections of Periston (Polyvinyl Pyrrolidone) or Dextran. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1951, 76, 765—767.
53. Sharp, D. W. The Sensitisation Potential of Some Perfume Ingredients Tested Using a Modified Draize Procedure. Toxicology 1978, 9, 261—271.
54. Alden, C. L. A Review of Unique Male Rat Hydrocarbon Nephropathy. Toxicol. Pathol. 1986, 14 (1), 109—111.
55. Lehman-McKeeman, L. D.; Rodriguez, P. A.; Takigiku, R.; Caudill, D.; Fey, M. L. D-Limonene-Induced Male Rat-Specific Nephrotoxicity: Evaluation of the Association Between D-Limonene And $\alpha_{2\mu}$-Globulin. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1989, 99, 250—259.
56. Flamm, W. G.; Lehman-McKeeman, L. D. The Human Relevance of the Renal Tumor-Inducing Potential of D-Limonene in Male Rats: Implications for Risk Assessment. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1991, 13, 70—86.
57. Goodman, J. I. An Analysis of the National Toxicology Program's (NTP) Technical Report (NTP TR 421) on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Talc. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1995, 21 (2), 244—249.
58. Baldrick, P.; Bamford, D. G. A Toxicological Review of Lactose to Support Clinical Administration by Inhalation. Food Chem. Toxicol. 1997, 35, 719—733.
59. Gopinath, C.; Prentice, D. E.; Lewis, D. L. Atlas of Experimental Toxicological Pathology; Gresham, G., Ed.; MTP Press Ltd.: Lancaster, 1987; 24—42.
60. Burger, G. T.; Renne, R. A.; Sagartz, J. W.; Ayres, P. H.; Coggins, C. R. E.; Mosberg, A. T.; Hayes, A. W. Histologic Changes in the Respiratory Tract Induced by Inhalation of Xenobiotics: Physiologic Adaptation or Toxicity? Toxicol. Appl. Pharmacol. 1989, 101, 521—542.
61. Gaworski, C. L.; Dozier, M. M.; Gerhart, J. M.; Rajendran, N.; Brennecke, L. H.; Aranyi, C.; Heck, J. D. Thirteenth-Week Inhalation Toxicity Study of Menthol Cigarette Smoke. Food Chem. Toxicol. 1997, 35 (7), 683—692.
62. Thompson, D. O. Cyclodextrins-Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals in Drug Formulations. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1997, 14 (1), 1—104.
63. Adeyeye, C. M.; Barabas, E. Povidone. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients; Brittain, H. G., Ed.; Academic Press: San Diego, 1993; 22, 555—683.
64. Renwick, A. G. Saccharin: A Toxicological Evaluation. Comments Toxicol. 1998, 3 (4), 289—305.
65. Rowe, V. K.; Wolf, M. A. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology; Clayton, G. D., Clayton, F. E., Eds.; Interscience: New York, 1982; 3844—3852.
66. Alexander, D. J.; Libretto, S. E. An Overview of the Toxicology of HFA-134a (1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane). Hum. Exp. Toxicol. 1995, 14 (9), 715—720.
67. Vogel, F. R.; Powell, M. F. A Compedium of Vaccine Adjuvant and Excipients. Pharm. Biotechnol. 1995, 6, 141—228.
68. Napke, E.; Stevens, D. G. H. Excipients and Additives: Hidden Hazards in Drug Products and in Product Substitution. Can. Med. Assoc. J. 1984, 131, 1449—1452.
69. Golightly, L. K.; Smolinske, S. S.; Bennett, M. L.; Sutherland, E. W., III; Rumack, B. H. Pharmaceutical Excipients. I. Adverse Effects Associated with Inactive Ingredients in Drug Products. Med. Toxicol. 1988, 3, 128—165.
70. Barband, A. Place of Excipients in Drug-Related Allergy. Clin. Rev. Allergy. Immunol. 1995, 13, 253—263.
71. Gebhart, F. Drugs' Inactive Ingredients Drawing Government Attention. Drug Top. 1997, 141, 18S—20S.
72. Scott, A. W. Non-Medicinal Ingredients. Drug Safety 1990, 5 (1), 95—100.
73. Johnston, K. R.; Govel, L. A.; Andritz, M. Gastrointestinal Effects of Sorbitol as an Additive in Liquid Medications. Am. J. Med. 1994, 97 (2), 185—191.
74. Kumar, A.; Aitas, A. T.; Hunter, A. G.; Beaman, D. C. Sweeteners, Dyes and Other Excipients in Vitamin and Mineral Preparations. Clin. Pediatr. 1996, 35 (9), 443—450.
75. Altimaras, J.; Nieto-Hernandez, T.; Buitrago, F. Presence of Excipients in Pharmaceutical Products in Three Sources of Therapeutic Information. Aten. Primaris. 1996, 18 (4), 190—193.
76. Monkhouse, D. C.; Lach, J. L. Drug-Excipient Interactions. Can. J. Pharm. Sci. 1972, 7 (2), 29—46.
77. Reimer, K.; Fleischer, W.; Brogmann, B.; Schreier, H.; Burkhard, P.; Lanzendorfer, A.; Gumbel, H.; Hoekstra, H. Povidone-Iodine Liposomes — An Overview. Dermatology 1997, 195 (Suppl 2), 93—99.
78. Ishida, O.; Maruyama, K. Transferring Conjugated PEGLiposomes as Intracellular Targeting Carrier for Tumor Therapy. Nippon Rinsho 1998, 56 (3),

657－662.

79. Naidoo, R. Examining Excipients. Pharm. Cosmet. Rev. 1997, 24, 23 25－27.
80. Zhao, Z.; Leong, K. W. Controlled Delivery of Antigens and Adjuvants in Vaccine Development. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 1261－1270.
81. Rubinstein, A.; Tirosh, B.; Baluom, M.; Nassar, T.; Friedman, M. Rationale for Peptide Drug Delivery to the Colon and the Potential of Polymeric Carriers as Effective Tools. J. Controlled Rel. 1997, 46, 59－73.
82. Medicines Order. The Medicines (General Sale List) Order, The Stationery Office Ltd.: London, 1997.

（张小红 杨 莉 译）

药用隔离装置

Gordon J. Farquharson
Bovis Lend Lease Pharmaceutical, United Kingdom

引言

隔离装置在医药工业和生命科学工业研究和生产中的应用得到了持续快速发展。参考文献介绍了许多新的应用，以满足不同的工艺需要。这些应用超出人用房间公认的概念和操作范围，仅在最近二三年，这项技术才得到cGMP指南和法规的认可。本章尝试描述了从咨询业获得的实践经验、20世纪70年代早期至今隔离装置的设计以及目前开发的先进的技术应用。为明确概念，隔离装置定义为：

一种可以创造小型密封可控或清洁分级环境的装置，可以保证在这个环境里进行的过程或活动在密封环境与其周围环境以及任何参与这个过程或操作的人员之间保持了有效的分隔。隔离装置可以设计成封闭型或开放型，也可以对其周围环境保持正压或负压。

下面概括了隔离装置一些基本特征，有助于扩展其应用于生命科学和制药工业的定义：

- 隔离装置可以提供最小体积的密封可控环境。
- 隔离装置将人员和过程分隔。
- 隔离装置能容纳危害环境和受环境危害的过程，或是两种危害共存的过程。
- 隔离装置壁或外壳可以是刚性的或柔性的，典型的主要材料是不锈钢和玻璃，以及可形成外壳的聚氯乙烯（PVC）柔韧薄片。
- 隔离装置内部用空气或惰性气体加压，有助于达到内外的分隔要求。加压可以是正压或负压。
- 采用高效空气过滤器（HEPA）或超高效空气过滤器（ULPA）[9]进行空气过滤，以控制进入、离开和再循环的空气质量。在部分应用中，使用极少量的惰性气体，如氮气，能够通过灭菌级的薄膜滤器传送。
- 隔离装置通常与处理设备的部件紧密相连，提供一个有效的局部控制环境。

近几年对隔离装置感兴趣的主要工业先驱者着重在改善过程的完整性，包括将操作者与强效和有害材料隔离、在无菌产品的生产中减少由特定步骤引发的非无菌污染设备的可能性。在某些情况下，减少占用空间和节约操作费用是基本目的。

技术指南和标准

尽管诸如英国制药隔离装置指南[1]、微生物安全柜的标准[2,3]和一些柔软薄膜隔离装置的指南[4]满足了有效标准的部分需要，但还需要进一步的支持。ISO技术委员会209在2001年发表了EN/ISO（DIS）14644-7[5]，这个标准命名为“增强的洁净装置”。虽然并非专门针对制药工业，但它包含许多基础的操作指南。2001年又发表了PDA的专论“用于医药产品生产和试验的隔离装置系统的设计和验证”。参考文献资源可以从核工业部门得到。ISO10648的“密封箱”就包含了一些有价值的部分[6,7]。

对于隔离装置，在严格控制的环境和外周环境之间的屏障是由单一元件组成的，而不是用于洁净室技术的多层保护方法。因此有必要认识到最终可操作的隔离装置的工程化解决方法、完整性和可靠性不仅对密封过程，而且对外周环境的质量要求都有直接影响。这对用于易污染无菌过程的隔离装置尤为重要。这是隔离装置最关键的任务，也是最难验证的。

隔离装置的设计和构建应该采用合适的保证质量的方式实施，因为装置常常是复杂的，要求高水平的文件资料来满足安全性和高质量的要求。符合ISO9000或相似的质量保证体系，提供一个合适的管理环境，在此环境中，可以设计和构建质量或安全关键的应用体系。

医药工业的法规要求和展望

在欧洲，隔离装置在生产、R&D和QC部门有许多应用。随着使用经验的增多，用户处于应用知识的前沿。法规指南现在可以在欧盟的GMP（EUGMP）指导原则中查到，不久将出现在“国际医药品稽查公约组织”（PICS）的监察指南中。有效证明系统完整性和性能的级别是隔离装置使用者、设计者或供应商的共同责任。监管者主要希望使用隔离装置能达到改善无菌或保证质量、保障操作者的健康和安全以及保护环境的目的。因此，监管者可能对减少单位生产成本或所用资本数量的问题关注不够。

目前，医药工业法规要求涉及隔离装置，特别是关于生产无菌产品的隔离装置。还没有关于在交叉污染和操作者安全控制领域应用的法规要求。当前的EU GMP清楚说明，隔离装置可以保证改善无菌产品的无菌性，并且在无菌生产过程中，隔离装置必须置于至少是D级的外周环境。FDA的要求描述较少，但也要求在相当的情况下，隔离装置应置于100 000级或M6.5环境下“运行”。

对于隔离装置的构造和性能，医药监管者还没有在文件中制定具体的要求。尽管如此，US和欧洲的调查者或检查者已确定了一些主要项目，包括：

- 利用隔离装置造成安全错觉，而cGMP标准可能被忽略；

Y

• 关注由过程和物理连接的临界环境引起的震动的影响；
• 手套和隔离服系统的完整性；
• 必须建立有效的检测渗漏的试验方案；
• 对于与气态或气雾的灭菌系统合用的隔离装置物理清洁的有效性；
• 良好的人类环境经济学设计的证明；
• 一个定义明确和可实施的人员干涉策略，包括干涉记录；
• 针对无菌过程的特制过程模拟程序；
• 不合适的无菌保证级别声明。

应用

隔离装置系统能够用于质量评价、安全评价或综合应用。这里所举的例子不完全，仅着重于一些最重要的应用，并列举说明了大范围的为满足特定需要的装置。

1. 无菌检查

许多年来，隔离装置为微生物实验室提供洁净的条件来检测最终产品的无菌性提供了一个有价值的工具。柔性膜和刚性壁装置都已成功使用，这些隔离装置用于进行促进微生物生长的培养基操作。隔离装置安全与否可以通过细菌在培养基中的生长加以证明。这些生长会被认为是假阳性的，需要调查污染源。隔离装置的安全性和有效性，在与清洁技术和诸如互锁传递系统的联合操作时，已证明能为这种类型的分析工作提供了一个较传统洁净室更安全的系统。

无菌检查要求对来自外界受控环境的微生物污染，而不是对过程本身产生的微粒污染采取严格的控制。因此，在受控环境中的正压隔离装置采用非单向气流能符合要求。采用半套装操作技术的柔性膜装置常用于这些方面。这些隔离装置常常配置成“密闭”的隔离装置，因为它们没有从内部空间排放的连续过程。图 1 就是一个用于无菌检查的隔离装置的例子。

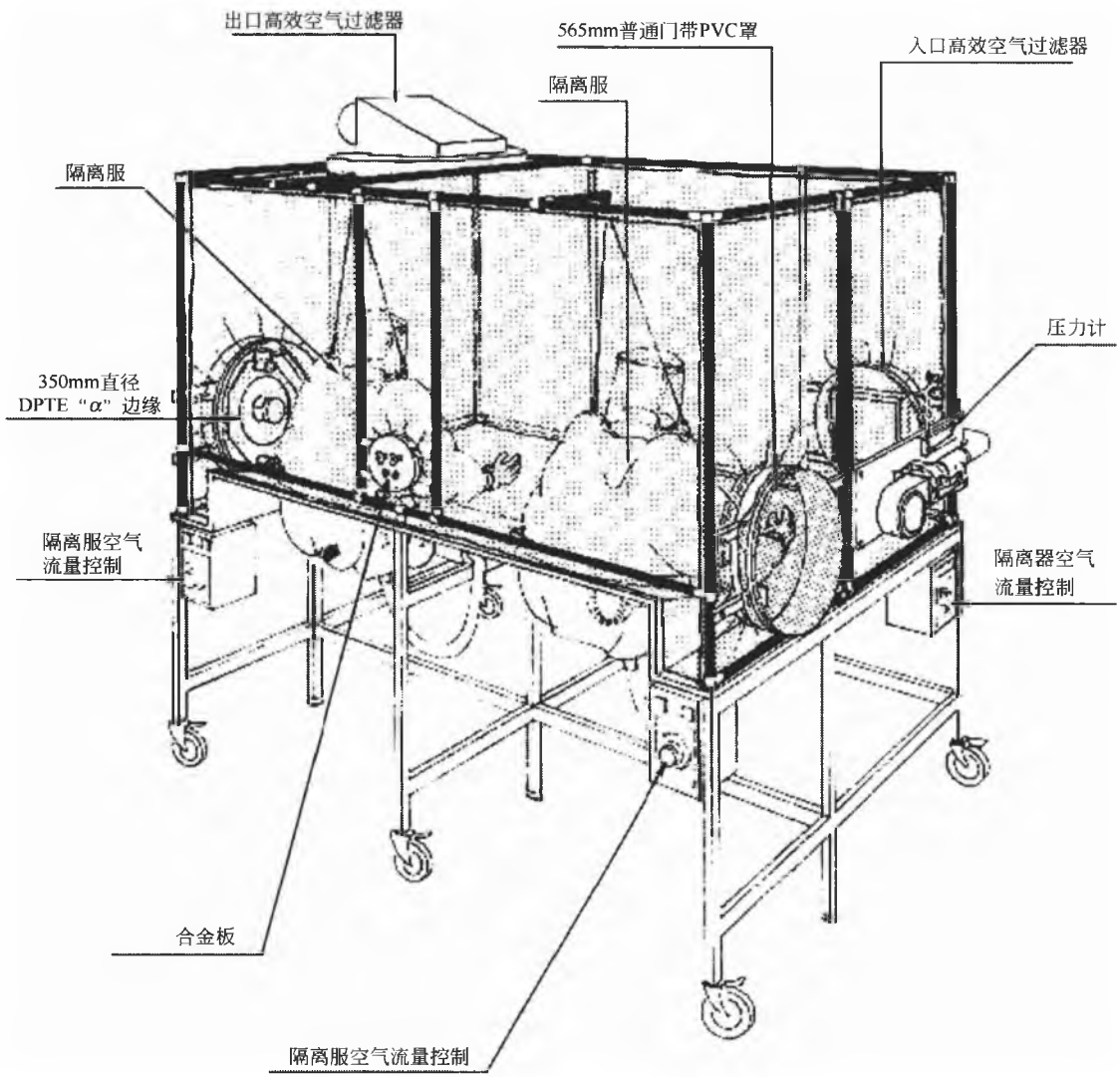


图 1 用于无菌检查的使用半套装的柔性膜装置（La Calhene 公司供图）

2. 强效药物的分装和配制

随着药品含有越来越多的强效活性组分，以及健康、安全和环境保护问题越来越重要，人们开发了许多类型的隔离装置，允许安全称量和分装高活性混合物。最复杂的应用，如无菌活性化合物原料的分装，要求隔离装置能保持内部无菌操作条件，同时满足安全要求。图 2 介绍的一种隔离装置，设计成将一小桶强效原料置入隔离装置环境，再安全地成批分装，以适应随后的处方批生产。装置包括小桶机械操作系统和在操作完成后净化小桶外部的清洗系统。

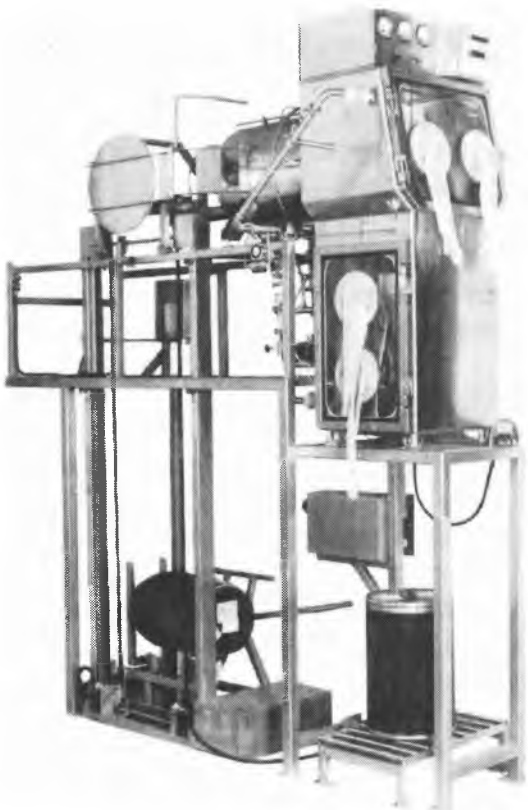


图 2　配制强效药用隔离装置（TPC Microflow 公司提供照片）

3. 粉末处理系统

简单的强效化合物处理的自然延伸，是利用屏障技术为粉末的处理和更复杂的操作提供高度安全的机械装置。这种类型和配置的隔离装置具有保护操作者和环境的目的，以及为处理提供了一个可靠的清洁和无菌环境。

图 3 是一个用于干燥和处理大量粉末的系统。它为处理大量粉末提供了清洁环境，强效化合物的容器，为安全使用可燃溶剂提供了氮气环境。它是一种放置于 EU GMP D 级洁净室的刚性正压装置，采用非单向气流维持内部充氮环境的洁净度。利用手套和半套装系统的组合完成操作。



图 3　强效药加工和操作的专门化隔离装置（TPC Microflow 公司提供照片）

4. 小规模操作

许多应用于临床试验规模生产的隔离装置，与用于无菌检查技术装置具有相同规模。医院药房药品的无菌配药也是在这种规模下进行的。这种生产不是连续进行的，而是以相对较小批量进行，能够在更安全的传递系统帮助下从隔离装置转移。在这种应用中，一个隔离装置用于配制多种产品，或几个隔离装置用于不同的任务。

如图 4 所示，一组隔离装置放置于 EC 的 C 级工作环境（大约相当于 ISO7 或 10 000 级“At Rest”）。配置隔离装置是为了给处理和保存干热灭菌组分提供无菌环境。提供的附加独立隔离装置还可供分开进行处方和（或）灌装操作。物料通过使用与安装在隔离装置侧壁和底部的 α/β 对接口连接的密封容器从一个隔离装置转移到另一个隔离装置，通过正压和对隔离装置中的关键操作区供应双层 HEPA 滤过的单向气流来维持内部的洁净度。

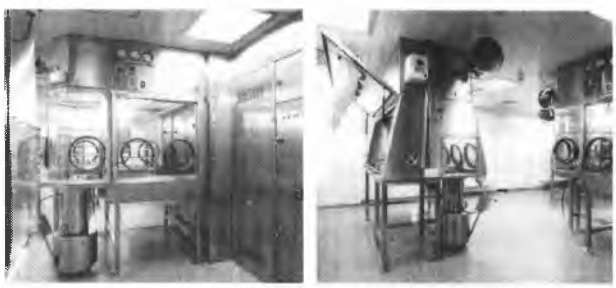


图 4　用于临床试验规模和专门生产的隔离装置（为了照片的清晰，已除去了手套）（Boots Contract Manufacturing 和 Bovis Tanvec 公司提供照片）

大规模无菌生产

隔离装置现在用于工业规模的制剂和灌装的无菌工艺。图 5 是刚性隔离装置相互连成网络系统的一个例子，该网状系统能够在整合的生产线上完成全部的组分处理和无菌灌装。环境的内部控制是通过正压室里的非单向和单向气流的联合作用实现的。各个室通过“空气密封”翻板阀分隔。产品流程一直到无菌灌装操作主要是自动的，提供手套用于特定的人工干涉。整个生产线放置于控制环境的房间中，但不根据洁净室标准分

级。过氧化氢蒸气用于隔离装置网络的表面灭菌，以及进入系统的产品组分容器的连续表面消毒。



图 5 装置连成网络用于针剂灌装的大规模工业生产，流程从左到右（Medeva 公司提供照片）

设计、制造和测试隔离装置的技术考虑因素

风险评估时，关键是过程对污染的敏感性。例如，在无菌工艺中，开放过程远比封闭过程危险。此外，系统在使用前需要复杂的无菌装配，这在小型隔离装置环境中很难处理，而采用原位清洁和原位灭菌技术（称为 CIP 和 SIP）要相对容易。因此，有必要评估所有的工艺步骤，包括设备传输、装配操作和工艺活动本身。有效记录这种分析在验证操作情况时是一种很好的习惯。

1）屏障完整性

复杂的隔离装置不可能没有泄漏。显然，屏障完整性越好，污染通过隔离装置壁的机会就越小。完整性是受结构的基本材料、设计效果、由清洁引起的损害、对过程中化学物质的耐受力、以及坚固性的影响。第一个需考虑的基本选择是用刚性还是柔性壁的构造，前者常用不锈钢和玻璃或防风玻璃窗的组合；后者使用连接到不锈钢底座或机器台板的熔接透明 PVC 外壳。在选择是用刚性还是软性壁之后，最重要的是确保选择一个有效的机制来测量隔离装置的漏气密封性。这样的测试应该成为一个装置结构验收试验的一部分，也应成为常规操作泄漏试验的一部分。压力保持测试是确定这套完整装置是否满足验收标准的最简单的方法。倘若隔离装置，包括其内部和外部空气系统，以一种适当的方式构建，那么可用简单的隔离阀分隔隔离装置，因此就可进行方便的泄漏率测试。如果需要，这种测试最终可以每批都进行。最常使用的测试方法是：

- 压力衰退率评价；
- 常压泄漏率测试；
- 示踪气体泄漏率监测；
- 示踪粒子迁移测量（有时叫做泄漏诱导测试）。

表 1 举例说明了四种“泄漏级别”系列，这将会收录于“增强清洁装置”标准，EN ISO（CD）14644-7 之中。这些级别基于 ISO 10648[6,7] 核密封标准中定义的泄漏水平。

表 1 隔离装置的泄漏率（暂定水平）

泄漏级别参考	密闭换气泄漏率/h	泄漏率：每小时体积分数/%
1	$<5\times10^{-4}$（<0.0005）	<0.05
2	$<2.5\times10^{-3}$（<0.0025）	<0.25
3	$<10^{-2}$（<0.1）	<10
4	$<10^{-1}$（<1.0）	<100

2）操作技术

操作技术影响隔离系统的总体完整性，事实上在所有情况下，操作装置时操作位点就是隔离装置屏障的潜在缺口。此外，将人体一部分置于专门的系统组件如手套或半套装中进行操作时，过程或产物污染的可能性要比钳操纵器、远程操作器或机器人装置大得多。在运行之前或之后，对手套接口和手套进行简单的压力保持或泄漏测试，在很大程度上能保证手套的完整性。由于其大小和构造，对半套装应用这种技术几乎是不可能的。对于这种装置，需要较少频率的针对完整性的检查和压力测试。另一可选择的操作方法是使用钳和远程操纵器（主要用于放射物质操作），这对隔离装置是有利的，但目前很少应用于制药工业。然而，值得注意的是，钳操纵器有其自身的特殊问题，使用捆绑套系统来确保旋转和滑动平衡环周围的气压完整性。这种捆绑套与长手套类似，其完整性和失效的风险也是同等重要的，应尽可能少操作。若一个手套损坏了，必须作为事件报告，并执行提前准备的行动计划。选择手套和长手套的材料是最重要的。半套装和套管/手套系统可以采用一种技术，借助腕部的特殊装置使手套从套管分离。一些这样的装置能够在系统运行时更换手套。长手套或单片系统通常更耐用，但不能在系统运行时更换。需要在耐久性和“感觉”间维持平衡。典型的可用材料是：

- 橡胶（天然的橡胶）有很好的灵巧性。如果厚度足够，就可以耐磨。能化学耐受许多温和的化学物、清洁剂和消毒剂。
- 氯丁橡胶（合成物质）有高度柔韧和很好的灵巧性。抗张强度低，对除了过氧化氢等氧化剂外的材料都有化学耐受性。
- 腈（合成共聚物）柔性差，但有很强的化学耐受性。
- PVC（合成聚合物）对除酮和芳香族烃外的材料有很强的化学耐受性，它不可弯曲且易撕裂。
- 聚氨酯橡胶的抗磨蚀、化学耐受和抗张强度均很好，但不适用于高温。
- 复合聚合体展现高强度和选择性化学耐受；使用锐利的物体时易失败。

将压力保持测试进行改进能用于现场测试操作手套的完整性。这提供了一种确定手套完整性的方便方法，而不用进入受控环境且无需更换昂贵的商品。个别供应商提供了一种可选方法，用惰性气体冲洗手套内腔，随后测量通过手套针孔泄漏扩散的氧气累积量。

3）传递技术

将材料传递进出隔离装置最可能损失内部环境整体性。传递系统越可靠，对外周环境的要求越低。最简单的装置，如单个的门，分隔外部和内部环境的能力非常小。事实上，在这些应用中，门或盖子打开时装置提供的唯一保护就是向外的气流。安全性可以通过双重门出入口改善。这种装置的性能和效力能够通过引入相对门的机械或电子机械互锁而得到改善。此外，通过增加气压过渡区的正向通气，冲淡并除去当外门打开时可能进入的污染物，增加了这种传递形式的安全性。最安全的技术包括与隔离装置直接连接的过程、互锁的接口系统（常叫做 α/β 系统）和连续组分排出的气流保护通道。虽然没有定义这种装置性能的特效测试或标准，但是可以采用其他应用中的测试。密封测试如那些用于开放-前部的微生物安全橱的测试，能有效地用于确定气流保护的产品排出通道的保护因子。对于 α/β 互锁接口系统，特定的厂商已经开发和应用了微粒和微生物挑战测试来确定这些装置的有效性或保护因子。这量化了在操作中通过用这种装置所达到的隔离。这样的测试可能成为类型或性能测试以及以后选择专门传递装置的基础。一个典型的 α/β 接口见图 6。

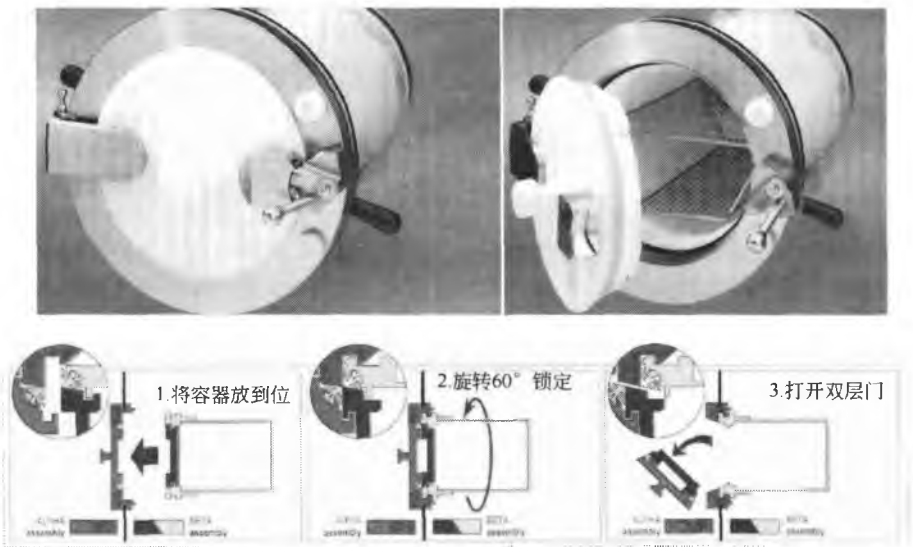


图 6　一个典型的 α/β 接口（经 La Calhene 许可的 DPTE 插图）

4）内部增压

隔离装置里的内压无疑对隔离装置排斥外界环境的能力有主要的影响。要考虑增压程度与经受迅速移动手套的活塞效应的能力关系，以及内部装置空气系统在部分或全部手套破损时是否达到特定的空气流出。增压的完整性和性能同样用于负压系统。然而，用于清洁和无菌处理的负压系统，可能需要比同等的正压系统更高级别的周围环境。手套活塞效应与相对体积（即手套所占的体积与隔离装置的体积的比值）有关。作为一个经验法则，相对于周围大气压力为 15～25 Pa 的装置，不如 50～80 Pa 的装置安全（由于活塞效应）。当手套破损需要气流防护时，应考虑 0.5～0.7 m/s速度的空气。如果出现比上述数值更高的极端高速，由于高度湍流外侧污染的二次夹带是很有可能的。有必要不仅在稳态条件而且在瞬时条件下进行增压效力测试。因此，人们希望进行一系列测试研究装置控制系统的开始和停止模式，手套或其他装置操作的影响，当然还有过程自身的交互作用。在无菌制药应用中要求最严的过程常常是连续去热源通道，由于装置压力过大而造成气体漏进通道，因而随时间而变化，并且因不同的机器设定而不同。在这类应用中，关键是综合所有操作状态进行装置环境的评价。同样地，通道中去热源过程必须在隔离装置所有状态完全合格的情况下进行。

5）气流场配置

与洁净室应用一样，隔离装置能采用单向或非单向气流方案，或在较大的系统中联合应用。隔离装置与洁净室的明显不同在于，洁净室通常是通过物理屏障分隔关键和非关键区，而不是采用控制气流的方法。因此，有可能在隔离装置中用低速气流达到要求的环境洁净级别。设计达到 100/M3.5/ISO 5 级洁净的单向气流系统能用低达 0.10m/s 的速度达到。当速度设定在如此低的水平时，有必要仔细评价热源和过程扰动的影响。确定隔离装置所需的气流特性之后，有必要使用流动风速计确定气流速度以及确定单向气流系统的气流均匀性。后者采用流动显示烟迹技术达到最好效果。如果一个隔离装置环境自身混合采用了单向气流和湍流和（或）常规流动区，这尤其重要。

在非单向气流系统中，空气过滤交换速率应该以冲淡内部生成污染物所要求的速率为基础。密闭体积的污染物衰退率可以用于衡量隔离装置中气流移动系统的效力。这在气体

清洁或灭菌过程结束时评价除气速率是很有帮助的。参照IES推荐的规范006.2中的方法，衰退率能用人工烟雾剂的生成并结合测定衰退曲线来测量。另一个可选择的气体衰变方法可以采用示踪气体方法，用来检验通风系统的效力。

6）HEPA过滤

空气过滤器的提供和定位以及隔离装置的过滤完整性与清洁或密封室技术同样重要。必须注重过滤器及其安装设计，并且应专门考虑源于隔离机械系统或过程传递的震动的影响。终端过滤器的安置应尽可能接近关键区，然而，限于空间和通路，有时对装配过滤器造成了困难。在房间中将过滤器置于接近但非关键区便于维护。使用这项技术时，过滤器间的管道或隔离装置应使用非脱落材料构建。自然或人工气雾剂挑战测试是测试现场的终端HEPA或ULPA滤器和现行的面向洁净室的标准的合适途径，其要求直接与隔离装置的应用相关。

7）空气的清洁分级

通过测量微粒浓度对工作环境进行分级，一般根据公认的空气传播-粒子分级标准中所述的要求实行。如果隔离装置的工作容积非常小，就有必要增加测试位置的数目，使用标准中的公式确定单点，在工艺或产品暴露的关键点确定两个、三个或更多的位置。若考虑连续或循环的自动粒子监控，必须注意确保作为样品带入的空气的体积不会对隔离装置的增压有不利影响。

8）开口的完整性

开口的完整性是一些隔离装置的重要特征。除了为隔离装置的增压设计和试验外，有些隔离装置需要设计以维持在部分或全部手套损坏时的隔离。尤其是内部出现生物或化学危害的情况，或出于安全的原因要包含这种设计。此外，在许多生产规模的隔离装置网络中，尤其那些灌装注射用容器，这对于灌封好的容器通过气流保护的通道从隔离装置中连续出来是一个有利条件。在这种情况下，控制进出隔离装置的保护空气速度，能够控制危险或减少内部污染的机会。空气高速流入和流出的效力（防护因素）能用生物学或烟雾剂挑战测试量化，此测试源于英国标准BS 5726[2]或美国标准NSF 49[3]中定义的方法。这两种标准和微生物安全橱相关，那是专门以量化密封因子为目的的测试。密封测试采用测试用烟雾剂检查开口，并测量通过开口逸出的量，逸出量和产生量的比用于计算密封因子。这些测试方法也能有效应用于测试和证明任何其他向内或向外孔穴的有效性，还能用于保护和分隔内外部环境。在经典的情况下，填充好的容器从固定板上连续卸下，离开无菌操作环境。重要的是确定没有湍流导致外部污染物进入关键无菌区。

隔离装置的清洁卫生

隔离装置内表面及其紧密接触产品部分的有效清洁和生物去污是非常重要的，特别是对无菌操作。清洁方法的有效性和可重复性可影响所需的周围环境质量，特别是对于预期打开隔离装置执行批和机器格式更换的情况下。如果采用这种程序，首先必须减少将室内污染物带入开放的隔离装置，然后采用有效的清洁程序。如果一些污染已经进入装置，有必要采用一种可重复和有效的清洁或表面灭菌方法。如果更换在密封的隔离装置中完成，清洁及消毒的需求就会减少。效果最差的处理，如表面拭抹和烟雾喷洒消毒剂不可能满足高效可重复过程的要求。然而，使用高度可控气相处理，如甲醛、过氧化氢、过氧乙酸和二氧化氯的物质是非常有效的。这些气相处理通常对沉积于表面的污物无效。因此，这些方法必须结合有效的物理清洁展开。

周围环境的设计考虑因素

最后，考虑了所有的上述内容与确定了所用隔离装置类型和性质以及周围环境质量之后，考虑一些关于周围环境设计的较广泛的问题很重要。有必要彻底考虑放置隔离装置的设施的所有属性，因为这对产品有重要影响。放置隔离装置的设施必须提供一个与相关的非关键活动清楚的分隔。通过布局和构建，必须达到下列要求：

- 为操作提供适当的物理安全；
- 控制和管理人员与原料的进入；
- 确保维持所需背景环境；
- 提供隔离装置所要求的设施。

参考文献

1. Isolators for Pharmaceutical Applications. In The UK Isolator Group; ISBN 0 11 701829 5 Her Majesty's Stationery Office: London, 1994.
2. Microbiological Safety Cabinets. BS5926: 1992 & BS EN 12469: 2000.
3. NSF 49Microbiological Safety Cabinets.
4. ACDP UK, Guidance on the Use, Testing, and Maintenance of Laboratory and Animal Flexible Film Isolators, Dec. 1995.
5. Clean Rooms and Associated Controlled Environments. A family of new standards produced by ISO and CEN. EN/ISO, 14644-1-14644-8, (Progressive Publication from May 1999).
6. Refer to ISO 10648 Containment Enclosures—Part 1: Design Principles; 1997.
7. Refer to ISO 10648 Containment Enclosures—Part 2: Classification According to Leak Tightness and Associated Checking Methods; 1994.
8. U. S. Fed. Standard 209E, Airborne Particulate Cleanliness Classes in Clean Rooms and Clean Zones.
9. Refer to Air Filtration, EN 1822 parts 1—5.
10. Air Cleanliness in Clean Rooms. JIS 9920 1989.

（赵 雁 译）

药用气雾剂的放射性标记及用于肺部沉积试验的γ射线闪烁扫描成像技术

Hak-Kim Chan

University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia

引言

通过吸入雾化剂已成功地将药物输送至肺部，从而进行局部和全身治疗，采用γ射线闪烁扫描成像技术测定雾化剂在肺部的沉积也已用于对吸入药物产品的评价。其成像图提供了雾化剂吸入后产生肺部沉积的数量与部位的直接信息[1]。吸收后的局部生物利用度，并非全身的生物利用度，与药物在肺部的直接沉积量密切相关。对于全身起作用的药物，药物沉积位置将影响其肺吸收效率和吸收范围。因而，雾化剂的生物等效性研究已提倡使用γ射线闪烁扫描技术，测定药物的肺部沉积[2]。沉积数据可进一步将临床疗效及体外颗粒大小分布相联系，并加强了二者间量化的内在联系。

通过成像技术测定其肺部沉积，雾化剂首先要加上适当的放射性核标志或标记。放射标记技术已用于现在的吸入治疗产品，包括喷雾剂、以抛射剂驱动的定量吸入剂（MDI）以及干粉吸入剂（DPI）。

肺部成像由γ射线照相机完成，相机的成像由在肺中的放射核发出的γ射线生成[3]。以前有关放射性标志过的雾化剂产品在肺部沉积的很多研究以平面成像完成，只收集胸前的或胸后的二维空间。然而，因为肺是三维空间的物体，雾化剂在肺中的空间分布最好能用断层（而不是平面）摄影成像技术获得，如单光子发射［型］计算机断层成像（SPECT），SPECT是产生体内放射性核横断面分布的成像技术，其通过不同角度（如180°或360°的64次或128次成像）在胸部周围用旋转的γ射线照相机的肺部成像完成，随后通过计算机对成像进行重建。

药用气雾剂放射标志的背景

在进行肺部闪烁扫描成像之前，首先必须让药用气雾剂带上合适的放射性标志。理想的情况是给药物直接装上放射性标志，即药物分子中的一个原子用放射性的同位素取代。这可用正电子发射器，例如，C-11、N-13和O-15元素来实现。正电子是带正电荷的电子，当与电子结合后，由于产生两种相同能量的（511 keV）γ射线，相互呈180°方向辐射。理论上，因为C、N或O元素存在于有机分子中，可用它们来标记任何药物。事实上，这些元素的使用受其半衰期短的限制（如，C-11、N-13和O-15元素的半衰期分别为20、10和2 min），这关系到药物处理所需的时间（包括为进行放射性标记的有机物合成及其随后的保证气溶胶产品颗粒大小分布特性的处理过程），而要生产正电子发射器，附近还必须有回旋加速器，这意味着额外的支出。到目前为止，只有三个抗哮喘的化合物已成功地使用正电子发射器加上放射标志：异丙托溴铵（Br-77）[4]、曲安奈德（C-11）和丙酸氟替卡松（F-18）[5]。这表明直接进行放射标记有一定难度。

因为前述的局限性，γ射线发射器间接地用于药物的放射标志，以便进行γ射线闪烁扫描成像。在这种情况下，药物的放射标记采用物理的方法代替化学共价键的方式，与药物分子进行结合。因此，代替直接化学方法是间接的放射标记方法。^{99m}Tc是最普遍使用的纯粹γ射线发射器间接用于药物气溶胶的放射标志物。^{99m}Tc产生的γ射线有足够能量（140 keV）穿透身体组织，而没有显著吸收或散射。但当它到达γ射线照相机检测器时，就会被吸收并转变成为光子，因此，最适合γ射线照相机成像。^{99m}Tc半衰期为6h，足以满足操作及成像需要的时间，但又不足以给使用者增加不必要的放射量。结果是^{99m}Tc用于大多数的核医学成像研究。^{99m}Tc之所以有如此短的生物学半衰期，是与其物理形式有关，如DTPA（二亚乙基三胺戊酸）或DTPA复合物，一旦被吸入肺内，它会很快从肺部吸收进入全身循环，随后是在肾脏从肾小球滤过进入膀胱，通过小便排泄。如果使用者饮水量大，全过程小于2h。

不管被放射标志的雾化剂产品的类型，雾化剂放射标志的一个基本要求是，放射标志必须与药物相关联，使放射标志分布不仅与标志的药物的分布一致，而且与未经放射标志的市场流通产品的分布相一致。

喷雾剂溶液的放射标记

喷雾剂溶液的放射标记是雾化剂产品中最简单的，将放射性核元素与药物溶液简单混匀即可完成。因为放射性核元素与药物均匀地分布在溶液中，而且只要没有沉淀成分产生，每个雾化的小滴含有的放射性核元素和药物与雾滴大小是成比例的。与DTPA或人血浆蛋白质混合的^{99m}Tc是广泛使用的放射性核元素。而高锝酸钠是不适合，因为其产生的自由阴离子，与碘一样，对甲状腺有高亲和性。目前，使用这一放射标记技术研究肺部沉积已有报道，为把放射性核元素和药物溶液混合在一起，雾化盐水和药物溶液的——包括奈多罗米钠[6]、沙丁胺醇、非诺特罗、异丙托溴铵、羧苄西林、喷他羟乙磺酸盐[7]、氟尼缩松[8]和二丙酸倍氯米松脂质体溶液[9]。

Y

抛射剂驱动的 MDI 的放射性标记

MDI 混悬剂放射标志有三个主要方法，分别由 Few 等[10]、Newman 等[11]和 Kohler 等[12]开发。最初的两个方法用于高聚物颗粒，但后来经改进应用于药物的放射性标记。

在 20 世纪 70 年代初期，Few 等[10]将聚苯乙烯颗粒作为放射性标志用于黏膜纤毛清除研究。放射性标志的雾化剂由转盘发生器产生。其放射标志技术包括以四苯砷高锝酸盐形式用氯仿提取高锝酸钠盐（$Na^{99m}TcO_4$），随后蒸发氯仿的关键步骤。聚苯乙烯溶液随后加入放射性残留物中，并分散均匀（方案 1）。这一技术后来用于 MDI 药物色苷酸钠的放射标记[13,14]。

方案 1　MDI 的放射性标记[10]

从 ^{99}Mo-^{99m}Tc 发生器以高锝酸钠盐洗脱 ^{99m}Tc
以浓 NH_4OH 调 pH 至 7～9
加一滴 5%四苯基氯化钾（TPA）溶液
用氯仿提取 ^{99m}Tc-TPA[1)]
通过分相滤纸将其分离[2)]
收集滤液（$CHCl_3$ 相含 ^{99m}Tc-TPA）
蒸发 $CHCl_3$ 至干
在适当溶媒中重造混合物用于制作放射性标志

1）例如，用机械的摇动或超声降解法处理 $CHCl_3$ 溶液；
2）例如，Whatman 1$^{P}_{S}$ 硅树脂处理的分相滤纸。

MDI 药物放射标记的另一方法是用聚四氟乙烯颗粒，其大小分布与药物特点类似（方案 2），这在 1981 年由 Newman 等完成[11]，他们用的聚四氟乙烯颗粒大小为（2±0.4）μm 以模仿支气管扩张剂 MDI 气溶胶的颗粒。因此，聚四氟乙烯颗粒视为药物的替代品。聚四氟乙烯颗粒几乎是单一分布，并且由一个转盘雾化器产生，然而，这一方法因为聚四氟乙烯颗粒的物理化学性质与药物颗粒的不同而受到限制。同时，聚四氟乙烯雾化颗粒大小的分布与药物不能相匹配，通过共同处理放射性标志的聚四氟乙烯颗粒与沙丁胺醇的物理混合物，其肺部沉积和临床疗效被同时检测[16,17]。

方案 2　MDI 的放射标记[11]

从 ^{99}Mo-^{99m}Tc 发生器以高锝酸钠盐的形式洗脱 ^{99m}Tc
让洗出液通过阳离子交换柱除去钠离子
收集滤液
滤液蒸发至干
加入混悬于 40%乙醇中的聚四氟乙烯颗粒
以转盘技术生成有放射性标志的聚四氟乙烯颗粒[1)]
收集放射标志过的聚四氟乙烯颗粒
将放射性标志的颗粒转移至空药罐中
再将 MDI 产品[2)]的成分加入上述罐中[3)]，然后密封
用超声混合

1）例如，转速为 62 000 r/min；
2）例如，MDI 在移出前冷却至－60 ℃；
3）例如，在转移之前将罐冷却至－60 ℃。

对雾化剂药物颗粒加放射标志物（而不是聚合物，如聚苯乙烯或聚四氟乙烯颗粒）的首次尝试用在非诺特罗和沙丁胺醇，由 Khler 等人完成[12]（方案 3）。然而，稍后发现其方法会改变标志雾化剂的颗粒分布，比未标志产品的气溶胶雾粒粗。其方法经 Summer 等[18]改进后（方案 4），广泛应用于 MDI 的放射标记。此法优于其他方法，因为它不需要使用四苯砷高锝酸盐氯化物及其氯仿提取。

方案 3　MDI 的放射标志[12]

从 ^{99}Mo-^{99m}Tc 发生器以高锝酸钠盐形式洗脱 ^{99m}Tc
用甲基乙基酮（MEK）[1)]提取 ^{99m}Tc-TPA
如果有需要，则重复提取
将水和 MEK 相分开[2)]
收集 MEK 相（含高锝酸盐）
在玻璃烧杯中蒸发 MEK 至干
加抛射剂[3)]和表面活性剂[4)]至干燥的高锝酸盐中
通过蒸发抛射剂浓缩至 0.2 mL
将含高锝酸盐和表面活性剂的抛射剂移入 MDI 罐加上放射标志，随后密封
振摇混合

1）例如，振摇混合高锝酸盐溶液与等体积的 MEK；
2）例如，用分液漏斗；
3）例如，氟利昂 11，5～10 mL；
4）例如，1% sorbitan trioleate 已使用。

方案 4　MDI 的放射标志[18]

前 4 个步骤如同方案 3
在空药罐中蒸发 MEK（含高锝酸盐）至干
将 MDI 罐内容物移至上述罐内，随后密封
用超声混合

注：此法比方案 3 简单，不涉及抛射剂浓度和随后的浓缩物的转移。

值得注意的是，前述的每一个放射标记的实例可根据研究的需要进一步改进，例如，药物颗粒可混悬在含放射标志的有机相内，并使用喷雾干燥，随后在抛射剂中重建，例如硫酸沙丁胺醇产品[19]。

虽然放射标记方法已被广泛应用，但其放射标志和药物颗粒之间的相关机理在最近才得以研究。Farr[20]对 MDI 体系的研究表明在氟氯烷烃制剂，亲水性的放射标志 $^{99m}TcO_4^-$ 会与亲水区域（包括亲水性药物颗粒的表面和反相表面活性剂的胶束内部相）亲和，有必要将此研究推广到疏水性药物和非氟氯烷烃抛射剂体系。表 1 是用于 MDI 放射标记的方法实例。

表 1 MDI 制剂放射标记的实例

MDI 药物	研究目标	文献
硫酸沙丁胺醇	开发放射标志方法[1)]	[19]
沙丁胺醇	开发放射标志方法，同时测定肺部沉积和支气管扩张剂疗效比较	[16]
沙丁胺醇	MDI、DPI 和喷雾剂肺部沉积和支气管扩张剂疗效[2)]	[17]
色苷酸钠	开发放射标志方法[3)]	[30]
色苷酸钠	MDI 和 DPI 的比较	[31]
色苷酸钠	间隔装置的研究	[13]
色苷酸钠	大剂量（每喷 5 mg）和间隔装置的研究	[14]
奈多罗米钠	开发放射标志方法	[18]
奈多罗米钠	气流适度性研究	[21]
硫酸特布他林；沙丁胺醇	开发放射标志方法	[22]
沐舒坦	肺部沉积研究	[23]
沙丁胺醇和非诺特罗	开发放射标志方法和肺部沉积研究	[24]
氟尼缩松和非诺特罗	肺部沉积和间隔装置的研究	[25]
沙丁胺醇	开发放射标志方法，和 DPI 与 MDI 的比较	[26]
碳氟化物中的二丙酸倍氯米松	体外颗粒大小与体内沉积相互关系	[27]
非诺特罗	比较喷雾剂与附加暂留室的 MDI	[28]
沙丁胺醇	微处理控制雾化给药（SmartMist™）	[29]

1）药物颗粒混悬于在氯仿相中，并喷雾干燥；

2）使用放射标志过的聚四氟乙烯（药物本身无放射标志）；

3）喷雾干燥的药物在 MDI 中重建。

DPI 的放射标记

一个广泛使用的将药物干粉标记为放射性的方法是在适当的液体中将放射标志物吸附到药物颗粒上（方案 5）。用含放射标志的非溶解溶剂湿润药物颗粒，随后将溶剂蒸发，放射标志就留在药物颗粒的表面。此方法已用于硫酸特布他林和布地奈德的放射标记[32,33]。影响干粉放射标记形成的因素包括药物的物理化学性质，不溶解药物的非溶剂的选择，放射标记在非溶剂中的溶解度、湿度、静电荷和处理步骤的多少[30]。不幸的是，具体细节通常还属专利资料，无法在文献中获取。例如，布地奈德粉球形颗粒如何用^{99m}Tc 溶液湿润确保放射标志重现性至今未见报告。

方案 5 DPI 的放射标志

前 4 个步骤与方案 3 相同
蒸发 MEK（含高锝酸盐）至干
将高锝酸盐再溶于适当液体中[1)]
将高锝酸盐溶液加到需要放射标志的药粉上[2)]
蒸发液体[3)]
将有放射标志的药粉装入 DPI[4)]

1）液体对药粉必须是非溶解性的；一些合适的溶剂是：水用于布地奈德，氯氟烷烃 11 用于沙丁胺醇。

2）混合，例如，需要时，进行 20 min 的超声。

3）使用冻干除水。

4）需要时与乳糖载体混合。

类似方案 1 的方法可作为替代使用，只要药物的放射性标志不溶于 $CHCl_3$ 中。这一方法包括与方案 1 一样的最初的 6 个步骤。过滤后收集滤液（$CHCl_3$ 相中含^{99m}Tc-TPA），再加入药粉，然后蒸发 $CHCl_3$，例如在 70°C，放射标志就留在药粉上。药粉装入 DPI 之中备用。支气管扩张剂（沙丁胺醇，硫酸特布他林）和哮喘预防药（奈多罗米钠）已成功使用该技术对药物进行肺部沉积的研究[31,34]。

早期也有使用喷雾干燥对药物干粉进行放射标志（主要为色苷酸钠）的方法[35,36]。基本原则可以认为与用于 MDI 的方案 1 相似，放射性标记过的颗粒通过蒸发雾化的小滴生成。方法非常直接（方案 6），但是含有不足，喷雾干燥颗粒的物理化学性与市售产品颗粒不同，这是由于市售产品常使用磨粉而不是喷雾干燥进行药物颗粒的微粉化。^{99m}Tc 吸附到颗粒表面后，喷雾干燥已用于制备有放射性标志的色苷酸和奈多罗米微粉[37]。

方案 6 DPI 的放射标志

准备需要放射标志的药物溶液[1)]
将高锝酸钠加入需要放射标志的溶液中[2)]
将溶液喷雾干燥[3)]
收集干粉
将放射标志过的药粉装入 DPI 内[4)]

1）例如，6%（质量分数）色甘酸钠溶液；

2）例如，1mL 的高锝酸盐水；

3）例如，Buchi 细微喷雾干燥器，190 型，供液速度为 60 mL/min，进口温度为 180°C，进气量为 2.4 m^3/min，喷嘴气压为 800 kPa；

4）例如，需要时与乳糖载体混合。

放射标志和药物颗粒之间关系的确切机理还不清楚，

Y

并且通常视为一种表面包衣现象。然而，表面积与颗粒大小的平方成正比，而体积（药量）与颗粒的立方成正比，因此，在气溶胶中，放射标志与药量相匹配，放射标志过的药物颗粒必须以凝聚物的形式存在，而不是以单个颗粒的形式存在。表 2 是 DPI 放射标志的实例。

表 2 药物放射标志的 DPI 实例

DPI 药物	研究目标	文献
硫酸特布他林	在肺部沉积研究中开发特布他林的放射性标志的方法	[33]
Nedocromil sodium	肺部沉积研究及其与 MDI 的比较	[34]
布地奈德	鼻内分布研究	[32]
布地奈德	在儿童囊性纤维化肺部沉积中的研究	[38]
沙丁胺醇	使用新 DPI 的肺部沉积研究	[30]
色苷酸二钠	传统 MDI 与新 DPI 的肺部沉积比较	[34]
硫酸沙丁胺醇	放射标志方法的开发，并与 MDI 比较	[26]
色苷酸	放射标志方法的开发	[37]

用于肺部沉积试验的 γ 射线闪烁扫描成像技术

在核医学中已经使用 γ 射线闪烁扫描技术测定气溶胶在肺部的沉积。γ 射线照相机的构成为：一个位于检测器前方的瞄准仪，其后是一排光电倍增管[3]，瞄准仪只允许 γ 射线按指定的角度到达检测器，检测器为一个由闪烁晶体碘化钠构成，将 γ 射线转变为光子，然后光电倍增管把光子转变成能在 X 和 Y 轴上的监视器，如在阴极射线管或计算机上显示的电信号。平面成像提供二维的肺前面和（或）后面的情况，在过去普遍用于药物肺部沉积研究，包括放射性标记过的雾化剂的吸入，同时用平行的 γ 射线照相机置于用药者的胸前或后背。当有放射性标志的雾化剂发出 γ 射线光子后，肺部在照相机检测器上的影像就形成了。平面成像主要优点是图像获得和数据处理较简单，同时，与断层成像术的成像（见 SPECT，见后面）相比，它需要较小的放射剂量。然而，平面成像的严重局限是，它将肺部的三维空间压缩成二维空间，因而，不能提供雾化剂在肺部的三维空间分布。如果肺部沉积数据作为生物等效性比较[1,2]，三维空间分布就显得更加重要。

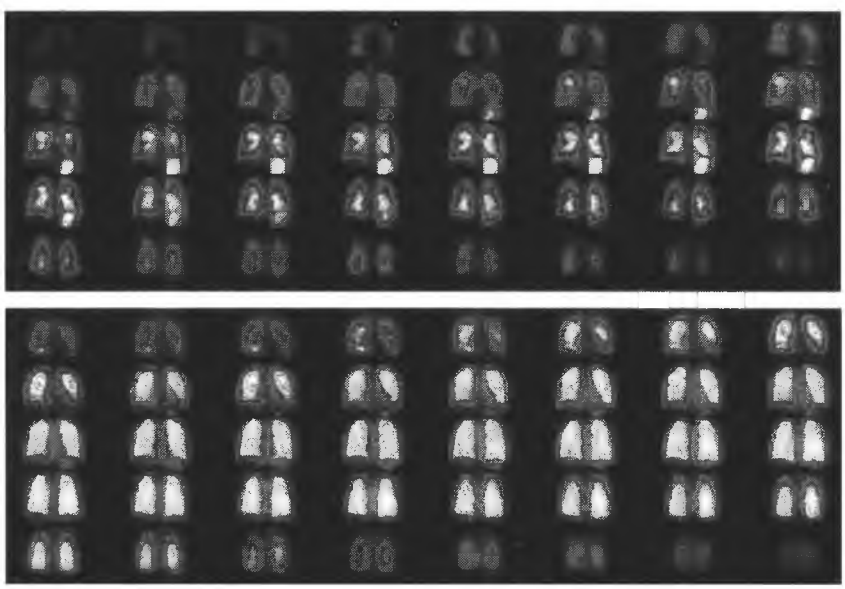


图 1 健康志愿者吸入由压缩气体喷雾器产生的含 ^{99m}Tc-DTPA 的正常生理盐水气溶胶后快速 1 min 的 SPECT 冠状面的肺部成像产生的气溶胶分别由较大雾滴（最大 7μm）和较小雾滴（最小 3μm）组成。两种气溶胶肺部沉积差异由影像可清楚显示

三维空间的成像数据可由 SPECT 完成。SPECT 已在很多研究中用来测定气溶胶的肺部沉积[6,39~44,49]，包括在吸入气溶胶后，用 SPECT 照相机围绕用药者胸部旋转，在不同的角度的肺部成像；接着由取得的原始数据经过高速计算机处理重建，肺冠状面、矢状面或横截面的肺部成像（如图 1 显示冠状面成像）。用于总肺部沉积定量的 SPECT 是否比平面 γ 射线闪烁扫描的区域肺部沉积量具有优势，仍然存在疑问，这可通过用两种技术测定已知放射能量的肺部影像比较来说明（如用一个大小类似人肺的塑胶容器），但这一比较的结果尚未公开。

1. SPECT 的误解

高放射性剂量时常被认为是 SPECT 的缺点[1]，显然，不管是用 SPECT 还是平面成像，使用的放射性剂量永远不应该超过其需要的剂量。有趣的是许多过去完成的平面成像研究与 SPECT 的放射剂量相当[43]。在实践中，考虑剂量必须与使用 SPECT 产生肺部沉积的真正优势相平衡。如果平面成像不能够提供必需的肺部沉积信息，就应考虑 SPECT，否则，用平面成像进行一项不够理想的研究不能得到必需的沉积数据是不合理的，因为它让受试者接受了不必要的放射暴露。使用 SPECT，到达肺部的放射量大约是 60 MBq，相当于 0.4 mSv 的有效的全身剂量。相比之下，来自日常生活的平均放射量大约为每年 2～3 mSv，与不同的地理位置有关。

对 SPECT 的另一个常见的误解是肺部成像时间较长和雾化剂颗粒沉积的再定位问题[1]。从历史角度来看，在 20 世纪 80 年代使用单头的 SPECT γ 射线照相机时，确实存在这种情况，因为成像处理大约需要 15～20 min[43]。在这段时间内，产生的放射标志图的再定位是通过立即比较获得的 SPECT 肺部成像的前后才得以确认。放射标志的移动在成像重建期间会产生药物颗粒抛射不一致的问题，导致重建的成像为假象。虽然有这些局限性，但是 SPECT 在区分雾化剂的肺部沉积方面已显示优于平面的成像的特点[39]。

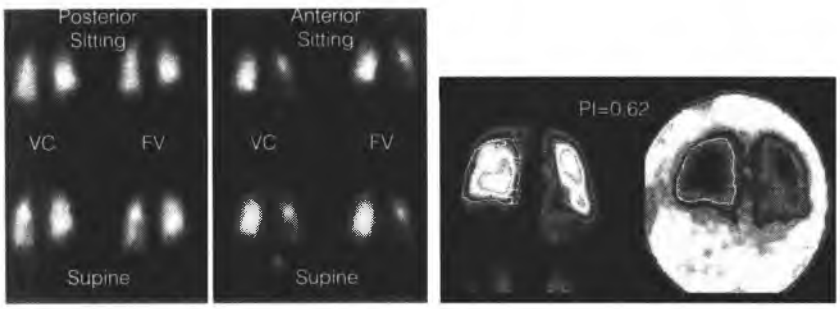


图 2 健康志愿者吸入由雾化吸入剂新产品（AERx system Aradigm 公司）雾化水和含^{99m}Tc-DTPA 的溶液的影像[42]。左侧是用两种不同的呼吸方式［肺活量（VC）或固定体积（FV）为比功能残留容量高 1L 的体积］和所述的两种不同姿势的平面成像；右侧为使用 SPECT 获得的中冠状面成像，由发射 SPECT 成像获得的来自 SPECT 传输的超位肺轮廓成像（右侧）确认了雾化剂在肺部的外围有极好的沉积

近年来在对采用不同呼吸方式[42]的新吸入剂的一项比较研究中，发现 SPECT 能够检测到平面成像观察不到的雾化剂沉积的细微差异（图 2）。长时间成像问题近来已通过快动力 SPECT 得到解决[44,49]，使用三头的 γ 射线摄相机，SPECT 成像时间已经减少到只要 1 min（图 1）。因此，在 20～30 min 内可以收集到 20～30 个完整的各个 1 min SPECT 成像图，使动态研究具有可行性。该技术也可用于研究雾化剂肺部沉积后的清除（图 3）。

2. 衰减与散射校正

当 γ 射线光子从肺部的放射核发出，在到达摄相机检测器之前先被身体组织吸收，因而发生衰减，衰减导致检测到的放射量降低。因为胸组织（肺、肌肉、骨头）的不同性质，衰减是不均一的，所以必须检测。实验证明，衰减数据可通过使用一个外部的 γ 射线放射源作为胸部的成像传输扫描获得。为了再避免成像排列在研究中的不确定性，

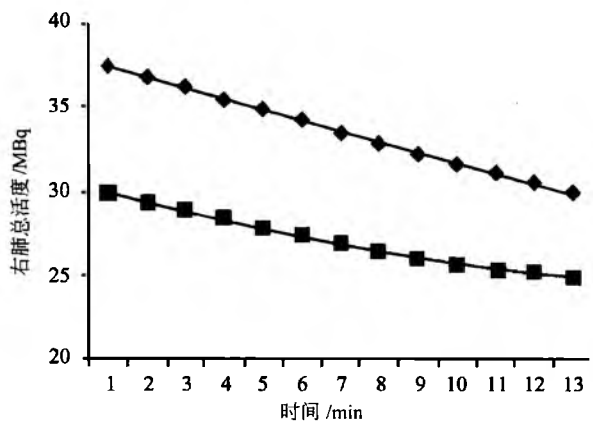


图 3 一例健康志愿者吸入雾化含 ^{99m}Tc- DTPA 生理盐水的大雾滴（■ 7μm）和小雾滴（◆ 3μm），由快速1 min SPECT 成像图测得的肺中活性清除动态时间曲线。在图中，采用 2 min 间隔使说明更清晰

传输成像最好在雾化剂研究（喷射）的同时进行[45]。这可在雾化剂肺成像获得期间，将放射源附加在γ射线摄相机上同步完成。用于传输产生成像的放射性核的使用，由于光子能量的不同会消除不确定性。同时进行发送和传输成像比较困难，衰减信息在雾化剂吸入前可以分别在传输研究中获得；另外一种方法是使用X射线计算机处理断层成像术（CT）扫描也能完成，但是其志愿者遭受较大的放射剂量，同时，分开的传输扫描会需要更多时间，成像排列可能更加困难。

在肺部的放射核发出的γ射线光子会遇到胸部组织而改变其原来的方向，此时发生散射，因此，散射会给出错误定位的测定量，并导致成像对比和数量准确性的丧失。雾化剂沉积的定量评价就需要衰减和散射的校正，后者对SPECT准确成像的重建很重要。推荐大家进一步阅读SPECT成像的全文[46,47]。

3. 数据分析

3.1 成像处理

平面成像可从前部视野或后部视野进行分析，因为肺有厚度，放射标志因肺部厚度不同随处可能发生。不同厚度对沉积的影响，可藉前部视野或后部视野几何学平均值使其最小化。

与平面成像相比，SPECT数据需要更严格的处理，包括数学成像重建运算法则。因为简单及快速，背景滤过方案的运算法则已用于临床，包括雾化剂肺部沉积在内的SPECT研究。背景滤过方案是使用已取得的成像数据（计数率图案）的技术总和，最终形成的图像是通过数学处理对滤过重建前或后背景方案的成像资料进行校正而获得人工成像。因为胸部区域的不均匀衰减，其他包括衰减和散射校正的多次重建技术也已被应用[46,47]。

3.2 肺区域绘制

在可能的情况下，可通过传输成像或使用放射性的气体，如^{81m}Kr的肺通气成像获得肺部轮廓。在将肺区域与雾化剂辐射成像相重叠后，肺就被区分为有意义的不同区域，而且在每个区域中活性成分量可被检测。例如，肺顶部与底部，或者中央与中部和外周是最常用的区域。分析雾化剂分布（或沉积模式）的一个传统方法是将一个区域与另一个区域的动态比来表示，例如，外周与中央之比，习惯上定义为透过系数；但是，每个区域的大小与形状还没有一致性，例如，矩形区域和肺形状区域在过去已作为平面成像，但是，其区域会因实验室而不同。因此，有必要将方法标准化，描述肺区域用于不同的实验室之间的比较研究。描述肺区域的基本原理是周边区域应该比中央区域有更多的小气道。在平面成像中，将不可避免产生肺结构的广泛重叠。在相对测定或比较研究中，当其目的是检测分布到特定解剖结构的沉积量时，使用相同志愿者作为其对照，区域大小和形状可能就不能像在绝对测定中那样至关重要。因为全肺大约160万个气道，所以后者是一项非常艰难的工作。近来，借计算机模型的帮助，在SPECT成像上已有这样的尝试性研究[48]。其研究的成功将会提供解释雾化剂在气道分布γ射线摄相机成像的有价值资料。

结论

喷雾剂溶液、抛射剂驱动的MDI和DPI的放射标志通常已有很好的文献报道，对于某些DPI，操作仍然是缺乏足够的细节来保证放射标志的重现性。放射性标志的雾化剂在肺中的沉积主要通过平面成像测定，使用SPECT的断层摄影成像能提供雾化剂在肺中的三维空间分布，近来开发的快速动态的SPECT，将成为新千年用于雾化剂成像方法的首选。

参考文献

1. Snell, N. J. C.; Ganderton, D. Assessing Lung Deposition of Inhaled Medications. Resp. Med. 1999, 93, 123-133.
2. Newman, S. P.; Wilding, I. R. Gamma Scintigraphy: An In Vivo Technique for Assessing the Equivalence of Inhaled Products. Int. J. Pharm. 1998, 170, 1—9.
3. Eberl, S.; Zimmerman, R. E. Nuclear Medicine Imaging Instrumentation. In Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment; Murray, I. P. C., Ell, P. J., Eds.; Churchill Livingstone: Edinburgh, 1998; 2, 1559—1570.
4. Short, M. D.; Singh, C. A.; Few, J. D.; Studdy, P. R.; Heaf, P. J. D.; Spiro, M. D. The Labelling and Monitoring of Lung Deposition of an Inhaled Synthetic Anticholinergic Bronchodilating Agent. Chest 1981, 80 Suppl, 918—921.
5. Berridge, M. S.; Lee, Z.; Zheng, L.; Heald, D. L. Nasal Distribution of Inhaled Drugs Determined by Positron Tomography. J. Aerosol Med. 1999, 12, 117.
6. Chan, H. K.; Phipps, P. R.; Gonda, I.; Cook, P.; Fulton, R.; Young, I.; Bautovich, G. Regional Deposition of Nebulised Hypodense Non-Isotonic Solutions in the Human Respiratory Tract. Eur. Resp. J. 1994, 17, 1483—1489.
7. Newman, S. P. Scintigraphic Assessment of Therapeutic Aerosols. Crit. Revi. Ther. Drug Carrier Sys. 1993, 10, 65—109.
8. Newman, S. P.; Steed, K.; Reader, S. J.; Hooper, G.; Zierenberg, B. Efficient Delivery to the Lungs of Flunisolide Aerosol from a New Portable Hand-Held Multidose Nebulizer. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 960—964.
9. Vidgren, M. T.; Waldrep, J. C.; Arppe, J.; Black, M.; Rodarte, J. A.; Cole, W.; Knight, V. A Study of 99m

Technetium-Labelled Beclomethasone Dipropionate Dilauroylphospatidylcholine Liposome Aerosol in Normal Volunteers. Int. J. Pharm. 1995, 115, 209—216.

10. Few, J. D.; Short, M. D.; Thomson, M. L. Preparation of 99m Tc Labelled Particles for Aerosol Studies Radiochem. Radioanal Lett. 1970, 5, 275—277.
11. Newman, S. P.; Pavia, D.; Moren, F.; Sheahan, N. F.; Clarke, S. W. Deposition of Pressurised Aerosols in the Human Respiratory Tract. Thorax 1981, 36, 52—55.
12. Kohler, D.; Fleischer, W.; Matthys, H. New Method for Easy Labeling of Beta-2-Agonists in the Metered Dose Inhaler with Technetium 99m. Respiration 1988, 53, 65—73.
13. Newman, S. P.; Clark, A. R.; Talaee, N.; Clarke, S. W. Pressurised Aerosol Deposition in the Human Lung with and without an Open Spacer Device. Thorax 1989, 44, 706—710.
14. Newman, S. P.; Clark, A. R.; Talaee, N.; Clarke, S. W. Lung Deposition of 5mg Intal from a Pressurised Metered Dose Inhaler Assessed by Radiotracer Technique. Int. J. Pharm. 1991, 74, 203—208.
15. In The Merck Index; Merck & Co. Whitehouse Station: NJ, 1996.
16. Zainudin, B. M. Z.; Tolfree, S. E. J.; Biddiscombe, M.; Whitaker, M.; Short, M.; Spiro, S. G. An Alternative to Direct Labelling of Pressurised Bronchodilator Aerosol. Int. J. Pharm. 1989, 51, 67—71.
17. Zainudin, B. M. Z.; Biddiscombe, M.; Tolfree, S. E. J.; Short, M.; Spiro, S. G. Comparison of Bronchodilator Responses and Deposition Patterns of Salbutamol Inhaled from a Pressurised Metered Dose Inhaler, as a Dry Powder, and as a Nebulised Solution. Thorax 1990, 45, 469—473.
18. Summer, Q. A.; Clark, A. R.; Hollingworth, A.; Fleming, J.; Holgate, S. T. The Preparation of a Radiolabelled Aerosol of Nedocromil Sodium for Administration by Metered-Dose Inhaler that Accurately Preserves Particle Size Distribution of the Drug. Drug Invest. 1990, 2, 90—98.
19. Arppe, J.; Vidgren, M. Practical Gamma Labelling Method for Metered-Dose Inhalers and Inhalation Powders. STP Pharm. Sci. 1994, 4, 19—22.
20. Farr, S. J. The Physico-Chemical Basis of Radiolabelling Metered Dose Inhalers with ^{99m}Tc. J. Aerosol. Med. 1996, 9 (Suppl 1), S27—S36.
21. Everard, M. L.; Stammers, J.; Hardy, J. G.; Milner, A. D. New Aerosol Delivery System from Neonatal Ventilator Circuits. Arch. Dis. Child. 1992, 67, 826—830.
22. Aug, C.; Perry, R. J.; Smaldone, G. C. Technetium 99m Radiolabeling of Aerosolized Drug Particles from Metered Dose Inhalers. J. Aerosol. Med. 1991, 2, 127—135.
23. Hardy, J. G.; Everard, M. L.; Coffiner, M.; Fossion, J. Lung Deposition of a Nacystelyn Metered Dose Inhaler Formulation. J. Aerosol. Med. 1993, 6, 37—44.
24. Ballinger, J. R.; Calcutt, L. E.; Hodder, R. V.; Proulx, A.; Gulenchyn, K. Improved Method to Label Beta-2 Agonists in Metered-Dose Inhalers with Technetium-99m. J. Aerosol. Med. 1993, 24, 787—794.
25. Hammermaier, A.; Bidlingmaier, A.; Waitzinger, J.; Stechert, R.; Wenske, H.; Jaeger, H. Radio Labelling of Drugs in a Metered Dose Inhaler (MDI) and Lung Deposition in Human Subjects. J. Aerosol. Med. 1994, 7, 173—176.
26. Biddiscombe, M. F.; Melchor, R.; Mak, V. H. F.; Marriott, R. J.; Taylor, A. J.; Short, M. D.; Spiro, S. G. The Lung Deposition of Salbutamol, Directly Labelled with Technetium-99m, Delivered by Pressurised Metered Dose and Drug Powder Inhalers. Int. J. Pharm. 1993, 91, 111—121.
27. Leach, C. L.; Davidson, P. J.; Boudreau, R. J. Improved Airway Targeting with the CFC-Free HFA-Beclomethasone Metered-Dose Inhaler Compared CFC-Beclomethasone. Eur. Resp. J. 1998, 12, 1346—1353.
28. Fuller, H. D.; Dolovich, M. B.; Posmituck, G.; Wong, P. W.; Newhouse, M. T. Pressurised Aerosol Versus Jet Aerosol Delivery to Mechanically Ventilated Patients. Am. Rev. Resp. Dis. 1990, 142, 440—444.
29. Farr, S. J.; Rowe, A. M.; Rubsamen, R.; Taylor, G. Aerosol Deposition in the Human Lung Following Administration from a Microprocessor Controlled Pressurised Metered Dose Inhaler. Thorax 1995, 50, 639—644.
30. Pitcairn, G. R.; Newman, S. P. Radiolabelling of Dry Powder Formulations. In Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J. Eds.; Inter-Pharm Press Inc. Buffalo Grove IL, 1998, 397—399.
31. Pitcairn, G.; Lunghetti, G.; Ventura, P.; Newman, S. A Comparison of the Lung Deposition of Salbutamol Inhaled from a New Powder Inhaler at Two Inhaled Flow Rates. Int. J. Pharm. 1994, 102, 11—18.
32. Thorsson, L.; Newman, S. P.; Weisz, A.; Trofast, E.; Moren, F. Nasal Distribution of Budesonide Inhaled via a Powder Inhaler. Rhinology 1993, 31, 7—10.
33. Newman, S. P.; Moren, F.; Trofast, E.; Talaee, N.; Clarke, S. W. Deposition and Clinical Efficacy of Terbutaline Sulphate from Turbuhaler, A New Multi-Dose Powder Inhaler. Eur. Resp. J. 1989, 2, 247—252.

Y

Y

34. Pitcairn, G.; Lim, J.; Hollingworth, A.; Newman, S. P. Scintigraphic Assessment of Drug Delivery from the Ultrahaler Dry Powder Inhaler. J. Aerosol. Med. 1997, 10, 295—306.
35. Vidgren, M. T.; Karkkainen, A.; Karjalainen, P.; Paronen, T. P. A Novel Labelling Method for Measuring the Deposition of Drug Particles in the Respiratory Tract. Int. J. Pharm. 1987, 37, 239—244.
36. Vidgren, M.; Paronen, P.; Vidgren, P.; Vainio, P.; Nuutinen, J. Radiotracer Evaluation of the Deposition of Drug Particles Inhaled from a New Powder Inhaler. Int. J. Pharm. 1990, 64, 1—6.
37. Chan, H.-K.; Gonda, I. Preparation of Radiolabeled Materials for Studies of Deposition of Fibers in Human Respiratory Tract. J. Aerosol. Med. 1993, 6, 241—249.
38. Devadason, S. G.; Everard, M. L.; MacEarlan, C.; Roller, C.; Summers, Q. A.; Swift, P.; Borgstrom, L.; Le Souef, P. N. Lung Deposition from the Turbuhaler in Children with Cystic Fibrosis. Eur. Resp. J. 1997, 10, 2023—2028.
39. Phipps, P. R.; Gonda, I.; Bailey, D. L.; Borham, P.; Bautovich, G.; Anderson, S. D. Comparisons of Planar and Tomographic Gamma Scintigraphy to Measure the Penetration Index of Inhaled Aerosols. Am. Rev. Resp. Dis. 1989, 139, 1516—1523.
40. Chua, H. L.; Collis, G. G.; Newbury, A. M.; Chan, H.-K.; Bower, P. N.; Sly, P. D.; Le Souef, P. The Influence of Age on Aerosol Deposition in Children with Cystic Fibrosis. Eur. Resp. J. 1994, 7, 2185—2191.
41. Phipps, P. R.; Gonda, I.; Anderson, S. D.; Bailey, D.; Bautovich, G. Regional Deposition of Saline Aerosols of Different Tonicities in Normal and Asthmatic Subjects. Eur. Resp. J. 1994, 7, 1474—1482.
42. Chan, H.-K.; Daviskas, E.; Eberl, S.; Robinson, M.; Bautovich, G.; Young, I. H. Deposition of Aqueous Aerosol of Technetium-99m Diethylene Triamine Penta-Acetic Acid Generated and Delivered by a Novel System (AERx) in Healthy Subjects. Eur. J. Nucl. Med. 1999, 26, 320—327.
43. Chan, H.-K. Use of Single Photon Emission Computed Tomography in Aerosol Studies. J. Aerosol. Med. 1993, 6, 23—36.
44. Chan, H. K.; Eberl, S.; Daviskas, E.; Constable, C.; Young, I. H. Dynamic SPECT of Aerosol Deposition and Clearance in Healthy Subjects. J. Aerosol. Med. 1999, 12, 135.
45. Bailey, D. L. Transmission Scanning in Emission Tomography. Eur. J. Nucl. Med. 1998, 25, 774—787.
46. Bailey, D. L.; Parker, F. A. Single Photon Emission Computed Tomography. In Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment; Murray, I. P. C., Ell, P. J. Eds.; Churchill Livingstone: Edinburgh, 1998; 2, 1589—1602.
47. Meikel, S. R.; Hutton, B. F.; Bailey, D. L. A Transmission-Dependent Method for Scatter Correction in SPECT. J. Nucl. Med. 1994, 35, 360—367.
48. Fleming, J. S.; Hashish, A. H.; Conway, J. H.; Hartley-Davies, R.; Nsaaim, M. A.; Guy, M. J.; Coupe, J.; Holgate, S. T.; Moore, E.; Bailey, A. G.; Martonen, T. B. A Technique for Simulating Radionuclide Images from the Aerosol Deposition Pattern in the Airway Tree. J. Aerosol. Med. 1997, 10, 199—212.
49. Eberl, S.; Chan, H.-K.; Daviskas, E.; Constable, C.; Young, I. H. Aerosol Deposition and Clearance Measurement: A Novel Technique using Dynamic SPET. Eur. J. Nucl. Med. 2001, 28, 1365—1372.

（陈桂良 译）

药用植物

Christine K. O'Neil
Duquesne University, Pittsburgh, Pennsylvania, U. S. A.
Charles W. Fetrow
St. Francis Medical Center, Pittsburgh, Pennsylvania, U. S. A.

药用植物史

植物药物，也就是应用植物或植物的某些部分来治疗病痛，数千年来是人类试图摆脱疾病困扰的途径之一。一些资料显示穴居人或许是最早植物药物的实践者之一。考古学家从中东地区的湖底进行发掘得到的证据表明，远古的人类采集植物不仅仅是为了获得食物或御寒。已发现的公元前3000年巴比伦刻制在陶片上的文字中，有最早关于植物用于仪式、巫术以及药物的记载。其后的一千年间，在中国、印度和埃及都有使用药草的记载。其他的早期历史资料已经表明古代的中东地区的人类最早规范记载了将植物应用于多种疾病的治疗，编辑了已知的最早的药典，命名为《本草学》。希腊的历史学家希罗多德详细叙述了埃及人是多么的崇拜某些植物，他们相信某些植物掌握着生命健康和长寿的秘密。在这一点上，希腊人绝不逊色于埃及人，他们将各种各样的植物和花都编入希腊神话中。大约公元前600年，中国编纂了一部巨著，详细记述了草药的用法、功效和制法。

几个世纪以来的诸多学者都在努力揭开草药的神秘面纱，但是人们仍然深深相信植物的重要作用。起源于公元1世纪的用药教义说明植物的一些形态能够提供其治疗作用的线索。这种观点流传了15个世纪，这在亚洲和西方，包括美洲土著人的文化中都有记载。

起初，这些原始的药物以原药材或制成浓缩物及膏状物入药。大多数有关早期药剂学的知识被美洲的土著人和早期的殖民者应用。人们经过巧妙地处理将植物制作成稍微复杂点的剂型，如口服液或注射，这一点并不令人奇怪，这些早期的简单制剂与现在茶的制法很相似。通常，这些植物药物未经前期的研究就已经为民间遭受疾病痛苦的人们所应用。各种各样疾病的处方被一代一代地流传下来，就好像食谱里面的烹饪方法一样。

由于科学在17世纪之后已经形成，植物也进行了分类，从此揭去了神秘的面纱。新的技术能用于分析植物的组成成分，从而可以制备标准的酊剂和提取液。大约在19世纪末20世纪初的时候，从这些植物中萃取相关的化学药品变得非常流行。一些活性的主要组分，如鸦片和洋地黄被分离出来并用于治疗疾病，尽管它们仍然缺乏正式的临床前研究。随着科学的发展，出现了许多合成药物，草药医学逐渐衰退。新发展的有机化学原理使得复制植物来源的化学品成为可能，为创造性地合成一些分子实体铺平了道路，这使得人们能够合成一些既具有天然产物药物的活性又具有较低毒性的新化合物。由天然产物生物碱可卡因引出的局麻概念及由来源于柳树树皮中的水杨酸制得的阿司匹林是重要的里程碑，它们标志着“对抗疗法”医学的开始。

我们今天所使用的许多药物都是植物中分离出来的(表1)。对现今的对抗性药物的调查显示，美国当前可使用的现代药物中，有25%～33%的药物来源于植物、动物或矿物。这些药物包括阿司匹林、地高辛、奎宁、秋水仙碱和长春新碱等。

表1 一些来源于植物的现代药品

现代药物名称	作 用	植物学名称	植物通用名
辣椒素	局部止痛	*Capsicum annum*	红辣椒
鼠李皮	止痛	*Rhamnus purshiana*	鼠李
秋水仙碱	治疗痛风药；抗炎药	*Colchicum autumnale*	秋番红花
地高辛	心脏衰竭或心律失常	*Digitalis purpurea*	毛地黄
麻黄碱及伪麻黄碱	拟交感神经药/解充血药	*Ephedra sinica*	麻黄
二甲麦角新碱	用于头痛的血管收缩药	*Claviceps purpurea*	麦角
鸦片剂（吗啡、可待因）	麻醉药，止痛剂	*Papaver somniferum*	罂粟
毛果芸香碱	青光眼及类乙酰胆碱能药物	*Pilocarpus jaborandi*	毛果芸香树
鬼臼根茎	抗有丝分裂药物	*Podophyllum peltatum*	盾叶鬼臼

续表

现代药物名称	作 用	植物学名称	植物通用名
奎尼丁和奎宁	抗疟剂	*Cinchona pubescens*	奎宁树
利血平	抗抑郁药	*Rauvolfia serpentina*	萝芙木
番泻叶浓缩物	泻药	*Cassia senna*	番泻叶
紫杉醇	化疗药物	*Taxus brevifolia*	太平洋紫杉
长春碱和长春新碱	化疗药物	*Catharanthus roseus*	长春花
华法林	抗凝血药	*Melilotus officinalis*	甜三叶草
育亨宾	壮阳药	*Pausinystalia johimbe*	育亨宾树

人们对合成药物和生物技术药物的关注仍在继续。不过，到20世纪后期，人们重新对草药疗法产生了浓厚的兴趣。然而，美国看起来是最后一个相信植物药疗的国家。植物药物的实践一直徘徊在美国当代主流药物的大门之外。德国、东方诸国以及意大利、西班牙、荷兰、比利时等在这方面更为积极。据报道，世界上有80%的人口使用了药草用于医疗目的[1]。其中最有名的国家之一是德国，据最新估计，其允许大约600～700种草药产品在国内市场上进行销售。现在大约有70%的德国医师们为他们的患者开出了植物医药品，从而巩固了其作为世界上最大的草药药物市场之一的地位[2]。此外，E委员会——德国政府的一个分支机构，有点类似于美国的食品与药品监督管理局(FDA)，编纂了数百种草药药物的治疗专题，并概括讨论了它们的安全性和疗效。

尽管刚开始的时候发展缓慢，但是美国商业化的草药工业正在蓬勃发展。目前，美国市场上大约有500多种不同的草药在销售，到1997年已经达到了32亿美元的销售额[3]。政策上较少的限制和直接面向消费者的广告宣传使得草药市场日益繁荣。通过邮购目录册和互联网，人们在保健品商店、超市和药房很容易就能买到这些产品。这些产品的安全性和疗效资料非常有限。一位非常著名的作家兼研究员Varro E. Tyler曾经说过："当前消费者面临的关于草药的疗效的许多错误信息比以前任何时候都多，包括专利药物在世纪之交的强盛时期。"除了德国E委员会的专论和一些正在进行的研究，并没有对这些产品进行重要的评价。这给研究工作带来机会的同时也向现代科学、医学及药学提出了挑战。

术语

草药产品被认为是替代疗法之一，常见的替代疗法有草药药物、中草药、顺势疗法、针灸疗法、机体反馈、颜色疗法、音乐疗法、催眠术疗法、香料按摩疗法、印度草药、按摩、医疗触诊、巴赫花疗法、脊椎指压疗法、反射疗法、物理疗法，以及其他更多疗法。根据美国国家卫生研究所（NIH）的替代疗法办公室的说法，在美国，替代药物和疗法的特点是针对特殊的疾病和状况且安全和疗效缺乏足够的文件资料，通常在美国的医学院里这些疗法并不教授给学生，而且健康保险公司对之不能进行理赔。草药产品在安全和疗效上存在一些不确定因素，甚至在对这些产品的术语描述上还存在混淆。很多产品根本不是草药（如锯叶棕是一种树）或者是植物药（褪黑激素和氨基葡萄糖）。因此，对其做进一步的阐明是很有必要的。

草药（herb）特指非木质的、生长缓慢的植物，如巴勒和欧芹。草药疗法被认为是使用天然的植物药物来治疗疾病或者促进健康。草药疗法的确切术语应当为植物医学(botanical medicine)。植物药（phytomedicinals）是指那些一般的制剂，包括胶囊、药片、酊剂和从植物中制取的流浸膏剂。这种一般制剂应当区别于那些从植物中分离纯化和标准化的药品。

"天然的"和"有机的"这些字眼对消费者来说非常有吸引力。但"合成的"则经常有些不太悦人心意。许多人认为天然的就是更好的、更安全的、对身体是非异质的，但事实上可能恰恰相反。天然产物是指取自植物、矿物质或动物，能用来保持健康或治疗疾病的物质。有机的是指在生长过程中使用的杀虫剂或化学药品的程度。例如，来自猪肉或牛肉的胰岛素是天然的，但不是自身的。重组胰岛素是人工合成的，但是自身的。因此，合成的物质，如合成胰岛素或雌激素，未必意味着异质的或者不愿意要的。

另外两个使用频率较高的广义的术语是营养保健品和食品添加剂。营养保健品包括食品、食品添加剂，或者具有保健和医疗作用从而能够预防或治疗疾病的功能性或治疗性食物。1994年的《食物补品保健和教育法》(DSHEA)提出的最新的术语是食品添加剂。根据FDA的说法，食品添加剂既不是食品也不是药物。该术语囊括了维生素、矿物质、草药或其他植物药、氨基酸，以及其他任何用于人类补充食物、促进健康的饮食物质。

草药使用的趋势

在美国，使用替代药物的流行趋势正在与日俱增。人们甚至可以将该现象描述为"爆炸"。在1993年公布的一项具有标志性意义的调查中，估计有33.8%的美国人使用过一种替代疗法[4]。接下来在1997年公布的调查报道说该比例已经变为42.1%，其中12.1%的人采用草药[5]。在超过50%的病例中，替代药物的使用并没有在原来的医师监

督下进行，只有38.5%的消费者向他们的医师报告使用了替代药物。

为什么人们要寻求替代疗法呢？许多人一直在努力寻求身体保健和疾病预防的方法，并且相信“天然的”方式就是最好的。对许多人来说，常规的疗法可能无法获得、无效或者可能会有使用者不愿意接受的很大的风险。一些人尝试了一些常规疗法却没有减轻病症，于是将替代疗法作为最后的选择。更何况，针对消费者的大量广告及有限的管理规范使得替代医药工业大规模发展起来。

最近的调查揭示了替代疗法消费者的一些特点[5]：将近50%的消费者年龄在35～49岁之间而且具有大学教育学历；48.1%的该人群收入超过5万美元。这并不奇怪，因为大多数的保险公司不会对这种产品支付保险。替代疗法的使用范围也有地域性，超过50%的消费者居住在美国的西部。一项早期的调查显示这些替代疗法的消费者具有较多的健康问题而且不大会参加健康维护组织（HMO）。他们去传统药物销售点的次数是其他人的两倍，而且买不到药物的情况更多。

关于草药的规章制度

草药疗法拥护者最主要一个的论点就是他们主张认为这些产品是天然的，因而对人类更加安全可靠。但是绝大多数的替代药物产品根本没有与之相应的规章制度出台，也没有要求在其商业化之前证明其功效、安全性以及质量问题[6,7]。目前在美国，FDA在管理和批准替代药物的准入上究竟应当起什么样的作用的辩论一直在继续着[7,8]。

过去的这一个世纪中，关于草药的规章制度方面的情况已经发生了变化。USP的第一版曾经几乎囊括了大部分的草药。美国政府在管理所有“药物”上的第一次尝试是1906年的《食品和药物法》，该法案仅仅禁止了假药或者说药物的误标行为。主要集中于上市销售的药品的质量问题，却忽视了药物本身的安全性和功效。《食品和药物法》本身是在一系列涉及专利药物的生产厂家和肉类加工厂的欺诈性事件被曝光并广泛宣扬后，美国政府受到公众的压力下诞生的。

FDA是由美国国会在1928年设立的，但是它只被赋予了很少的一点权利，甚至在关于其如何运行上得到的指导意见也是寥寥无几。药品的安全性问题在20世纪30年代后期磺胺酏剂导致了100多人死亡事件之后最终被提了出来。在1938年的《食品、药物和化妆品法》（FDCA）中规定，药物在投放市场之前必须证明其安全性。FDCA将药物定义为一种物质，而不是食物，该物质得到了USP和NF的认可，且该物质用于治疗或预防疾病或者影响身体组织。实际上，不包含在USP/NF中的草药现在已经被认为是食物。直到最近收录在USP/NF中的草药才拥有了法定药物的地位。

作为1962年Kefauver-Harris修正案的结果，药物在上市之前需要证明其功效。FDA目前要求制药企业为每一个新实体提交新药申请（NDA），其中必须包括证明药品安全性和功效的科学合理的实验室研究和临床试验。草药和其他缺乏有关安全性和功效数据的产品成为非处方药。1972年成立了专门小组来评估这类非处方药的活性组分。这项工作的研究结果于1990年公布。这类产品被分为Ⅰ类、Ⅱ类和Ⅲ类。一般认为Ⅰ类制品安全有效而且没有错误标识。Ⅱ、Ⅲ类物质则不安全、无效、标识错误或者是缺少充分的数据[7]。仅有很少的草药，比如番泻叶被归为Ⅰ类制品。由于对大多数公司来说，提供数据的成本并不合算，于是现在大多数物质被作为不能提供标签的食品或食品添加剂。

尽管多数草药的外包装不能标明其治疗用途，还是有产品借助宣传其所含物质好处的随处可得的文章、小册子和广告而得以继续销售。1990年颁布的《营养标识及教育法》尝试改进与食品和食品添加剂相关的标签和教育。在这一点上，甚至考虑了要将这类产品撤出市场。关注上市草药制品的性能在国会引发了大范围的游说活动，从而于1994年出台了《食品添加剂、健康和教育法》（DSHEA）。

DSHEA将草药制品归类到食品添加剂中，也界定了食品添加剂的定义，即维生素、矿物质、药草、氨基酸和其他能用于补充膳食的物质。膳食补充剂既不是食物，也不是药物，因此免除了FDA的监督和上市前的批准过程。对于所有在1994年10月之前引入的产品，证明它们安全性的举证责任是在FDA手中，而非制造商。该时间之后引入的产品务必由制造商证明其安全性。目前对制造商们没有要求递交安全性和功效数据，也没有要求GMP规范。尽管如此，FDA有权确立GMP规范，现在正在开发中。初步方案表明这些GMP规范会更多地反映对食品的GMP要求，而非药品。

同期还成立了替代医药管理处（OAM），负责研究和汇编替代医药数据的工作。OAM的职能是NIH的一部分，目的在于进一步阐明诸如草药等的替代药物在美国的作用。在其他国家，类似的委员会（比如德国的E委员会）已评审了草药的安全性和功效，并将结果公布于众，从而针对草药的争论得以终止。

尽管和草药疗效和标准相关的信息有限，但确实存在一些资源。受到最广泛公认的资源是德国的E委员会专论，包括了超过300种草药产品的信息。其他具有不错参考价值的资源包括《美国草药药典》、《英国草药药典》（BHP）、《英国草药纲要》、欧洲植物药科学合作组织（ESCOP）、《美国药典》以及世界卫生组织（WHO）。

目前并不能使消费者信服所购买的产品满足任何法规标准，即便是标识上有说明。由于它们来源于植物，对每批草药成分进行含量标准化受很多因素的影响。生长条件、储存、采集、预处理和加工过程都可能影响最终产品的质量。另外，这些植物制品中有许多确切的活性成分仍不清楚。

总的来说，替代药物由于被归为食品添加剂（DSHEA）而无需证明其功效（Kefauver-Harris修正案）。这也意味着草药制品不能在标识或包装上注明治疗用途，

但可以分发与疗效用途相关的第三者信息，前提是该信息不误导或不针对特殊品牌。

关于草药的标识问题

尽管 FDA 列出多数草药是安全的，草药制造商却不能在没有证据支持的情况下合法地宣称他们的产品对某种疾病的治疗功效。食品补充剂可能会对人体的结构和功能具有功效，也可能有公认的健康作用。但却不能说它们能治疗、预防、减轻、治愈或者诊断任何疾病。做声明时，不能说食品补充剂是食品，也不能使用术语“显著的科学协议”。添加剂生产商需要在提交的文件上罗列数据来证实他们对产品所做的“结构/功能”说明。例如，结构/功能说明可能也包含诸如“有助于你放松”、“维护前列腺健康”、“肝脏保养”或“有利于促进心血管健康”一类的陈述。说明不能有诸如“降低胆固醇”、“改善良性前列腺肥大”或“治疗免疫缺陷”一类的陈述。如果食品添加剂会造成紧急损害，则会被 FDA 禁止，同样，本质上令人误解的说明也会被禁止。尽管 FDA 只管理食品添加剂的标签，广告的管理隶属于联邦贸易委员会。FDA 建议生产商不要对他们的产品和妊娠期的服用做任何相关声明。FDA 计划在不久的将来推出与食品添加剂及妊娠期的使用相关的附加规定。

生药的炮制

大约有 25 万种显花植物存在于现今世界中。但仅有小部分的药理学活性得以充分研究。基于过去的表现，我们有理由推测在还没用于疗效筛选的植物中仍有很多有价值的化合物等待被发现。我们识别潜在有用的植物体时可借助与疗效相关的轶闻和地方性民间医学知识。

术语“生药学”指的是对药用的“天然”资源的化学成分的研究。尽管这往往指的是高等植物中化学物质的研究，但是低等植物（真菌、霉菌和酵母菌）、动物、海洋动物、鱼类、昆虫以及矿物质同样也含有潜在的药用成分。在大多数工业国家，生药（仅在生产前采集和干燥的天然物质）很少用作主要的治疗剂。通常情况是，植物中重要的化学成分经鉴定、提取、衍生或修饰后，放入均匀的药物载体中用于治疗，以期增强其“天然”用途，减少任何固有危险发生。

许多植物可在与其原生地相似的气候下生长。植物对某一特殊区域的适应性和在相同地区采集植物的花费，是决定生药在某一特定国家的可用性的两项标准。另外，国家和国际对采集野生植物的限制会限制对植物资源的利用，并增加生产成本。这些因素也迫使国家专门进行仅有的特定类型的植物医药的生产。

虽然有趋势表明一个国家仅生产特定的植物物质，生药的质量却常被质疑。一种生药进入加工处理过程之前，有多种机会被掺假、损坏以及污染。

在采集期或收获期，技术熟练的劳工成为影响野生植物采集质量的一个重要因素。当天然物质价值不菲或供量不足时就常会出现掺假。采集某些植物时用机械装置可能来得更经济，但是如果需要的仅是植物体的特定部分时机械装置就用处不大。栽培植物可确保来源的可靠，也降低了被替换的风险。环境条件（温度、雨量、昼长、日照、海拔、天气和土壤）能显著影响植物中活性成分的质量、浓度和活性成分的存在。植物生长的年份也是生药活性成分质量的一个决定因素。

在干燥之前，要将植物体上遭昆虫侵染或疾病感染的部分摘除。术语“精选”即是在干燥之前从植物体上剔除不需要物质（如污垢、碎片和无用的植物部分），在包装和储存之前再重复的半技术化处理过程。

干燥少则数小时，多则数星期。这取决于当地气候的相对湿度和植物组分的物理性质。干燥时采用人工加热（热水管、加热器和连续带式干燥器）能缩短干燥时间。老练的工人知道何时该结束干燥，避免植物部分变得太脆或过于干燥。

当周围空气潮湿（通常吸湿为 10%～15%）或干燥后被光照，干制品就会发生变质。产品回潮后就给霉菌、细菌和昆虫提供了舒适的生存环境，从而被污染。一些加工过程通过灭菌将微生物污染降到最低。产品的储藏和保存条件必须适宜，以确保其质量能保持到生药运送至生产设备中，经历碾磨、破碎、萃取和蒸馏操作，最终成为草药制剂。

食品添加剂的相关标准

对于消费者而言，官方标准对于确保草药制品的质量、可靠性和均一性是绝对必要的。当计划在医疗保健中对这些产品进行临床研究时，标准化的产品显得尤为重要。来自独立实验室和大学附属研究机构的报告已经证明存在着大量与产品的质量和可靠性相关的变化因素。在国外，由草药生产商和草药协会组成的 ESCOP，正与欧洲的研究团队一起致力于开发天然产物生产的质量控制标准。该委员会编写的专论已经收载入如《英国草药药典》和《英国草药纲要》一类的参考专著中。

同样地，1995 年，USP 任命天然制品顾问小组负责制定与草药或食品添加剂相关的标准和开发信息。通过他们的努力建立的添加剂专论中说明了与单个草药标准化有关的问题。下面列出的章节标题概述了每篇专论中的信息。

（1）标题——确定最广为接受的实体名称。

（2）定义——描述所使用的植物所属科、属、种及部位。

（3）包装与储存——举例说明为保证产品完整性而设计的适宜的包装和储存条件。

（4）标签——对标签所用术语的要求说明。

（5）参考标准——确定适当的参考标准。

（6）植物性状——描述植物整体或局部的肉眼可见的和微观的形状和结构特征。

（7）鉴定——描述在鉴定生药实体时有用的生药学试验。

（8）总灰分——限定燃烧后所余无机残渣的量。

（9）酸不溶性灰分——限定用3mol/L盐酸煮沸总灰分后所余无机异物残渣的量（一项检测样品中灰尘和泥土量的指标）。

（10）水溶性灰分——限定用水煮沸总灰分后的所余残渣。

（11）有机异物——限制杂质含量。

（12）干燥失重——设定标准限制水、挥发油或其他挥发性化合物损耗。

（13）含水量——限制植物干品的含水量变化范围。

（14）醇溶/水溶性提取物——设定水溶、醇溶或水醇共溶的提取物的最小可接受量。

（15）挥发油——描述植物所含挥发油的量。

（16）重金属——限制植物中存在的重金属含量。

（17）农药残留量——严格限定农药含量。

（18）微生物限度——限定细菌总数和霉菌数。

（19）标记成分和含量测定——建立以特定植物标记成分为基础的定量化学分析标准，有利于正确鉴定。

草药的危害性及现况

草本药物有许多未知和未阐明的危害、副作用和药物的相互作用。与当前严格测试的药物一样，食用草本药物也具有一些危险。即使一种植物完全“天然”也不表示它对人体完全无害。当用最天然的方式进食许多植物时，这些植物会使人或动物患上严重的疾病甚至死亡。表2中列出了部分具有潜在危害的天然草本。草药医生、科学家和公众通常避免使用表2中列出的许多植物。然而，也有几百种其他的草药和替代药物，它们的毒性还未测试也未报道。暴露于植物的化学组分（内因）或者是制造过程中不合理和不正确的操作（外因）会直接造成草本药物产生副作用[9]。典型的内在危险包括药物间的相互作用、高浓度药物产生的毒性，或者单独摄入草药组分的化合物导致的不良反应。

表2 具有潜在危害性的植物示例

通用名	植物学名	报道的毒性事件
美洲槲寄生	*Phoradendron flavescens*	引发高血压
美国紫杉	*Taxus canadensis*	细胞毒性
山金车花	*Arnica montana*	剧烈的肠胃神经错乱、肌肉虚弱崩溃
番红花	*Colchicum autumnale*	GI毒性、呕吐、神经毒性、肾衰竭
颠茄	*Atropa beladonna*	反副交感神经生理作用毒性
Betal棕榈叶	*Areca catechu*	致畸
鸟足车轴草	*Lotus corniculatus*	氰化物中毒、抽搐、瘫痪、昏迷、死亡
美洲南蛇藤	*Solanum dulcamara*	强心毒性
黑颠茄	*Solanum americanum*	强心毒性
黑洋槐	*Robina pseudoacacia*	心搏迟缓、恶心、呕吐、眩晕
血根	*Sanquinaria canadensis*	伤害组织功能
蓝旗	*Iris versicolor*	恶心、呕吐、腹泻
金雀花	*Cytisus scoparius*	腹泻、胃肠道毒性、脱水
毒扁豆	*Physostigma venenosum*	胆碱能毒性
蓖麻	*Ricinus communis*	胃肠道毒性、脱水
白屈菜	*Chelidonium majus*	
Chapparral	*Larrea trindentata*	爆发性肝衰退
中国灯笼草	*Physalis alkekengi*	
紫草	*Symphytum officinale*	肝毒性
棉花	*Gossypium hirsutum*	低血钾、雄性不育、高剂量时引起心衰
水仙花	*Narcissus pseudonarcissus*	中枢神经系统抑制、缩瞳、昏迷、流涎、呕吐、死亡
枯死的卡马夏植物	*Zigadenus elegans*	
沙漠羽毛	*Stanleya*	
麦角	*Claviceps purpurea*	引起幻觉、高血压、组织萎缩、丹毒
玄参	*Scrophularia nodosa*	
毛地黄	*Digitalis purpurea*	心搏徐缓、心肌梗死、心律失常

续表

通用名	植物学名	报道的毒性事件
白毛茛	*Hydrastis candensis*	反射亢进、高血压、抽搐、呼吸系统衰竭
绿色假藜芦	*Veratrum viride*	
向日葵	*Heliotropium europaeum*	肝毒性
树篱荠菜	*Sisymbrium officinale*	心脏毒性、心力衰竭
纤维夹竹桃	*Sisymbrium officinale*	心脏兴奋、心律失常
莨菪	*Hyoscyamus niger*	抗胆碱能毒性
七叶树	*Aesculus hippocastanum*	出血
印度石竹花	*Spigelia marilandica*	过量引起死亡
印度烟草	*Lobelia inflata*	呕吐、瘫痪、低温、虚脱、昏迷、死亡
泻根	*Exagonium purga*	剧烈腹泻
曼陀罗	*Daturia stramonium*	抗胆碱能毒性、幻觉
飞燕草	*Delphinium ajacis*	
Life root	*Senecio longilobus*	由于肝脏静脉阻塞引起的肝损坏
铃兰	*Convallaria majalis*	心脏毒性
驴蹄草	*Caltha palustris*	牲畜死亡的第二大杀手（以外食人）
盾叶鬼臼	*Podophyllum peltatum*	强烈的胃肠道刺激
附子草	*Aconitum* spp.	心脏毒性、神经毒性、高血压、心律失常
蝙蝠葛	*Menispermum canadense*	心动过速、严重的呕吐反应、催泻
牵牛花	*Ipomoea purpurea*	幻觉/精神疾病
山月桂	*Kalmia latifolia*	
长春花	*Vinca major*，*vinca minor*	细胞毒性、肾脏衰竭、肝衰竭、神经损伤
芹叶钩吻	*Conicum maculatum*	出生缺陷、小腿弯曲
美洲商陆	*Phytolacca americana*	
皇后垠	*Stillingia sylvatica*	胃肠道毒性、致突变
毒莓	*Actea rubra*	
夹竹桃杜鹃花	*Rhododendron maximum*	
士的宁树	*Strychnos nux-vomica*	中枢神经系统毒性、心力衰竭、心搏徐缓
毛茛	*Ranunculus acris*	
桂足香	*Cheiranthus*	心脏毒性、心力衰竭、心搏徐缓
白色假藜芦	*Veratrum album*	
野生樱桃	*Prunus virginiana*	呼吸困难、晕眩、抽搐
野生欧亚甘草	*Glycyrrhiza lepidota*	高血压、高血钠、低血压、肌肉松弛
山芥菜	*Barbarea vulgaris*	动物的肾损伤
驱虫籽	*Chenopodium mbrosioides*	恶心、头昏眼花、抽搐、瘫痪
苦艾	*Artemisia absinthium*	横纹肌溶解、肾衰、发作并发症、中毒、嗜睡
黄茉莉	*Gelsemium sempervirens*	瘫痪、死亡

尽管目前法律没有规定必须向 FDA 报告食品添加剂的副作用，但是造成不良反应的许多案例已经被明文记录了。FDA 已设立 MEDWATCH［(800) FDA-1088］这个机构接受和汇编药物副作用的报告。政府鼓励卫生保健部门向该机构报告任何与服用食品添加剂有关的副作用。

1992～1996 年，草药相关副作用的报道已经编印汇总[10]。这篇报道侧重于与多种草药相关的过敏性反应、肝毒性反应以及多种肾脏损伤。一些中草药制剂由于会引起肾病而声名狼藉[11～13]。其中最有名的是一种与 L-色氨酸相关的食用添加剂事件，其食用后产生的作用被吹捧为可以减轻病痛并促进睡眠。1980 年后期，人们发现赋形剂或者药片填充剂含有少量 L-色氨酸产物时，会造成一种罕见但是据报道却是致命的病症（嗜曙红细胞增高综合征）。此外，常见的含有麻黄属生物碱的食品添加剂和减肥产品最近造成一些副作用，如血压升高、战栗、心律失调、癫痫、脑卒中、心脏病发作以及死亡。这些是由 FDA 从 1993～

1997 年数百个医疗事故报告中总结出来的[14]。此外，一项评估草药产品使用流行率的研究表明，由于病者自行将草药加入黑咖啡或者茶中，导致成年人哮喘患者发病率增高，住院治疗人数增加[15]。在中国台湾一家医院针对入院患者的大型回顾性研究中发现，4%的病患与药物有关。最易产生副作用的药物中，草药列第三位[16]。

1. 草药-药物相互作用

通常，人们不了解也不考虑药物潜在的相互作用。许多草药天然含有香豆素和强心苷，以及能强化低血糖症或高血糖症、促进镇静或产生多种其他作用的化学物质，这些会危及按处方药物治疗的患者的生命。最近的两份报告明确表明，当与 St. John's Wort 一起服用时，一些药物会发生相互作用[17,18]。而 St. John's Wort 作为酶诱导剂作用于细胞色素 P450 体系。因此，当同时摄入药物与 St. John's Wort 时，必须当心那些通过 CYP450 3A 同工酶代谢的药物。而报道显示，由代谢导致的药物相互作用并非唯一的草药-药物相互作用类型。此外，其中的一例是由于摄入组合配方的草药，导致左旋甲状腺素吸收不良[19]。一些最近的综述引用了草药-麻醉剂相互作用引发的潜在危险以及其他外科手术前使用草药的担心[20]。

2. 草药的误传

向公众分发不恰当或者不合理的信息，以及松散的法规制度，导致粗心的消费者被引入服用草药并产生危险副作用之路。成功的食品添加剂和草药生产商每年花费几百万美金用于广告宣传。现存的草药佐剂的管理制度和商品标签不足以让消费者意识到服用后存在的危险。尽管 FDA 规定限制了生产商的宣传只能适当维持健康，但是许多情况下，广告产品是误导性的，或者至少说是值得怀疑的[10]。如果有关商业化的信息和替代药品上市不受监督的话，那么至今互联网的惊人潜力会表现出最强大的市场能力，它能放大并传播草药的未知危险。因此，人们能通过互联网购买到在美国买不到的草药产品，这些产品直接关系到无知的消费者的实际发病率[21]。

3. 错误标签、替换、污染和掺假

通常，与医药大型企业相比，食品添加剂和草药制造企业不需要符合同样的标准和规定。

1998 年春，FDA 对一个称为睡佛的草药给出警告。该产品含有未标明的镇静剂成分——苯二氮䓬类艾司唑仑，庆幸的是没有该产品不良病例的报道。同一时期，FDA 对于另一种叫车前草的草药也给出警示。该植物含有类似洋地黄的糖苷，因此，食用该草药对于患心脏病的老年人有危险。这类潜在的危害却被归结为飞来横祸。这些危害除了与产品的标识错误或者鉴定错误相关外，通常还与产品的标准缺乏、污染、掺假或被替换有关。此外，也有案例表明中草药掺假进甲芬那酸会导致肾病[12]。关于错误标识和掺假等相关具体的讨论已经有文章报道了[9]。

许多植物会根据其活性化学组分的量不同而变化显著。这种可变性取决于植物采集的时间、植物的生长期、授粉方式，和（或）灌溉情况、风力、气候和土壤状况。这些变量导致生产得到的产品明显不同。

此外，当消费者摄入草本佐剂时，他们暴露于多种化合物。佐剂制造商不总是从植物中分出活性化合物组分，因此，在摄入报道的活性组分同时，消费者一同摄入了许多不同的“天然的”化学物。

产品缺乏药品的稳定性测试也是值得关注的一点，因为这些数据通常不在标签或其他地方上注明。人们已经在“纯”草药中发现多种污染物，如重金属、阿司匹林、咖啡因、茶碱、利尿剂、皮质类固醇、苯二氮䓬类物质和阿托品等[10]。

4. 缺乏关于用法和监测的一致意见

草药在如何服用方面缺乏的一致意见。不同的来源，药物的推荐剂量也不一致，甚至在该领域有名的推崇者间推荐剂量也不同。对于草药的副作用和效果的监测也没有标准存在。

5. 为证实疗效引起治疗时间上的延迟

采用草药佐剂治疗时，个人需要花费时间来评估预期的治疗结果，而这段时间本可以用于寻求专业医师建议和业已验证的药物疗法上。许多病例如抑郁症，尤其是精神病或者危及生命的疾病治疗中，寻求专业治疗的时间耽误将导致患者处于生死一线间。

6. 草药的滥用

与处方药不同的是，任何人都可以自由购买并使用草药。不需要过多考虑他人忠告，不需要限制，更加不需要严格确认个人年龄或身份。但是，与之形成鲜明对比的是，我们在购买烟酒时要求购买者达到某个年龄。想要购买这些烟酒的个人必须给出有效证件以证明自己的年龄超过了最低年龄限制。对于未成年人这是必需的环节，因为社会大众认为他们如果未达到指定年龄就不够成熟或者缺乏“充分教育”，因此在这些化学物（烟和酒）的处理上存在潜在的危险和责任。这些烟酒会令人着迷，上瘾甚至对于人的生理造成损伤。与烟酒一样，草药并非不存在潜在的滥用危险，存在潜在的有害健康的危险，甚至有时造成上瘾或沉迷的危险。与未成年人购买烟酒的后果同样，不明情况或被误导的消费者购买草药也会引发严重后果。

几百年来人们用植物罂粟治疗疼痛就是一个这样的例子。其衍生物在现代医学中仍旧被使用，但是其潜在滥用的危害也同样有详细说明。由于罂粟的潜在滥用危害，在其使用上应加以管制是毋庸置疑的。同样的例子是古加灌木叶子，古印加人和无数代印加后人咀嚼这种植物叶以助他们在海拔高的安第斯山脉上劳作。在许多文化里，传统的医师和宗教领袖用精神性植物作为宗教仪式的一部分，但是，这种植物安全无害的想法仍旧存在。许多植物在特

定的情况下已经安全地使用了几百年，比如宗教仪式上。但是，当大众不加选择地使用它们时，就会出现问题。典型的一个例子是抗焦虑药麻醉椒，最近有关它的宣传很多。从前波利尼西亚人使用了几百年没有任何不良症状，但是现在我们知道它会加强酒精的作用，甚至它单独就会导致亢奋[22~24]。虽然有些使用者已经产生了不良反应，如长期使用产生皮肤过敏，但是他们还是持续使用麻醉椒。与具有滥用危害的许多药物一样，不是每个人都同样程度地滥用某一物质的。但是，由于这样的物质的使用越来越广泛，滥用的例子持续更多地出现。许多药物滥用的潜在危害不是立即出现的，而是在对该药物进行临床实验后发现的。不幸的是，尽管如上所述，草药产品在进入市场前并未严格进行实验验证。因此，只有当许多人产生如药物依赖性等副作用后，这些问题才得以发现。

7. 花费

尽管与FDA批准的其他药品相比，草药价格不贵，但是如果需要持续使用几周或几月的话，花费仍旧是可观的。因此人们需要考虑的花费包括延期的有效治疗、副作用、药物相互作用以及住院费。由于草药越来越普及，草药生产商更多地投钱于广告上，所以两种药在价格上的差异会随之减少。

用它们的语言——简要说明一些“替代性”术语

在这部分，我们定义一些在讨论替代医疗时常用的术语。在本章中，我们试图将这些专业术语转换成更常用的专业词汇。但是，我们同时也希望在这部分能包含一些读者遇到的不熟悉的专业术语。这里我们只是设想，那些不从事替代医疗的卫生保健人员并不了解。这部分信息仅仅是提供参考，并非旨在给出指导建议或是给出事实根据。

1. 替代疗法处方

1.1 敷布与膏药

敷布是指浸有药物浸出液或蒸煮液的干净的亚麻布，而膏药是一种固体物质（通常是用粉末或新鲜干燥的药草做成糊状物），通常置于伤口上加快其愈合。在一些情况下敷上一层蜡纸以及热敷都有利于伤口愈合。

1.2 汤剂

汤剂是一种水制剂，就像茶一样。它的应用在那些坚硬的木质的植物中更有效，因为这种植物中的活性成分需要高热才能释放出来。干燥的草药放入沸水中煮沸10～15min然后过滤就可以服用。

1.3 提取物

浸膏是浓缩的溶液——偶尔也会生产浓缩成固体或粉末的浸出物——这里面含有植物的化学成分。通过醇提（有机物）或水提（水溶性物质）得到提取液，然后溶质被部分或全部从溶液中提取出来。

1.4 浸出剂

制作浸出剂在本质上跟泡茶相似。浸液可以是凉的或热的，这种方法尤其适用于热不稳定的化合物。药用的叶、花，或者柔软的茎经常用这种方法制作以供服用。在服用之前通常要滤去碎渣。这种形式不同于现在应用的无菌静脉注射剂。

1.5 酊剂

酊剂是一种被轻度浓缩的植物酒精提取物。偶尔使用乙酸与丙三醇提取。通常不采用加热的方法来促进植物成分在酒精中的溶解，但需要溶剂和较长时间的浸提。

替代疗法的治疗作用（不一定被证明过）包括：

（1）替代物——另外被称作“血液清洁剂”，可以促进健康与活力。

（2）适应原——帮助人体更加有效地对抗压力。

（3）消炎——消除通常由静脉窦及呼吸系统感染引起的水肿、充血及黏液。

（4）收敛剂——收缩皮肤细胞，减少分泌及流出。

（5）苦味——通过“味觉神经”显著地激发食欲。

（6）排气——通过加强肠蠕动及松弛胃肠道促进正常的肠道作用。

（7）利胆——促进胆囊胆汁分泌，有轻度的泻药作用。

（8）缓和镇痛——内用可缓解发炎组织的疼痛并起保护作用。

（9）调经剂 ——促进月经量正常。

（10）皮肤缓和剂——外用可以缓解发炎皮肤部位的疼痛，并起保护作用。

（11）催乳剂——增加哺乳期妇女的产奶量。

（12）催涎剂——促进唾液分泌。

（13）止血剂——通过收敛作用止血。

（14）补药——可以增强某个器官或系统的功能。

2. 植物的化学成分

2.1 生物碱

这些天然产生的含氮化合物（胺）具有多样的药理活性，如可卡因、吗啡、咖啡因以及吐根碱。

2.2 蒽醌类

蒽醌类往往具有通便作用，如alloin、barrbaloin、大黄酚、大黄素以及大黄酸。

2.3 苦味素

苦味素结构多样，包括能够促进肠道作用的环烯醚萜及其萜类化合物。

2.4 香豆素

香豆素是天然的抗凝剂。

2.5 黄酮类化合物

黄酮类化合物包括维生素 P 和橙皮苷。它们有很广泛的活性。

2.6 糖苷类

糖苷类是含有糖的化合物。糖苷作用多样。包括洋地黄苷、番泻苷、药鼠李苷。

2.7 苯酚类

酚是弱酸，有止痛与抗菌防腐作用，如水杨酸与丁香酚。

2.8 皂苷类

皂苷类化合物放在水中搅拌会产生泡沫。它们有抗炎、溶血及祛痰作用。皂苷类化合物可以从丝兰、洋菝葜、苜蓿、胡卢巴、甘草及人参中提取。

2.9 鞣酸

鞣酸有收敛作用，但是高浓度时会有肝毒性。鞣酸在治疗烧伤及创伤方面较有用。

2.10 挥发油（精油）

挥发油由复杂的有机化合物组成（苯酚、酸、醇、醚、酮及醛），暴露在空气中时会挥发掉。很多植物中都有挥发油，是植物香味的来源。挥发油有很多的性质，但是一些常见的挥发油有抗菌或局部刺激性、镇静作用。薄荷油、丁香油、桂皮油、大蒜油以及百里香油都是挥发油。

总结

以往的事例说明忽视中草药中的有前景的化学成分的做法是愚蠢的。生药学（研究来源于植物及动物的药物）专家认为只有一小部分植物的药理活性被深入地研究。现代的制药企业似乎忘记了这个巨大的特殊化学实体的宝库，更喜欢这些已经存在的成功药物的副产品或生物技术新药。我们从植物中开发新药的实践已经帮助人们合成了甚至比直接从植物体中获得的化合物更加具有价值的新化合物。在替代疗法及补充疗法的全球性关注热潮中，我们深入地研究这些中草药及其衍生物，并提供相关的临床试验数据，对患者的安全来说是紧迫的。制药企业也许会在植物药方面投入更多的关注。只有卫生保健提供者自身获得真正的信息后，患者才会对他们自身的保健做出明智的决定。

参考文献

1. Atherton, D. Towards the Safer Use of Traditional Remedies. Br. Med. J. 1994, 308, 673—674.
2. Alschuler, L.; et al. Herbal Medicine: What Works, What's Safe. Patient Care 1997, (October), 49—68.
3. Bartels, C. L.; Miller, S. J. Herbal and Related Remedies. Nut. Clin. Pract. 1998, 17, 5—19.
4. Eisenberg, D. M.; Kessler, R. C.; Foster, C.; et al. Unconventional Medicine in the United States: Prevalence, Costs, and Patterns of Use. N. Engl. J. Med. 1993, 328, 246—252.
5. Eisenberg, D. M.; Davis, R. B.; Ettner, S. L.; et al. Trends in Alternative Medicine Use in the United States, 1990—1997: Results of a Follow-Up National Survey. J. Am. Med. Assoc. 1998, 280, 1569—1575.
6. Tyler, V. E. The Honest Herbal. A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies, 3rd Ed.; Pharmaceutical Product Press: New York, 1993.
7. Castleman, M. The Healing Herbs: The Ultimate Guide to the Curative Power of Nature's Medicine; Rodale Press: Emmau, PA, 1991.
8. Sale, J. D. Overview of Legislative Developments Concerning Alternative Health Care in the United States; John E. Fetzer Institutes: Kalamazoo, MI, 1994.
9. Drew, A. K.; Myers, S. P. Safety Issues in Herbal Medicine: Implications for the Health Professions. Med. J. Aust. 1997, 166, 538—541.
10. Ernst, E. Harmless Herbs. A Review of the Recent Literature. Am. J. Med. 1998, 104, 170—178.
11. Lord, G. M.; Tagore, R.; Cook, T.; et al. Nephropathy Caused by Chinese Herbs in the UK. Lancet 1999, 354, 481—482.
12. Abt, A. B.; Oh, J. Y.; Huntington, R. A.; et al. Chinese Herbal Medicine Induced Acute Renal Failure. Arch. Intern. Med. 1995, 155, 211—212.
13. Vanherweghem, J. L. Aristolochia Nephropathy in Humans: An Outbreak in Belgium. J. Am. Soc. Nephrol. 1993, 4, 327.
14. Nightingale, S. L. New Safety Measures are Proposed for Dietary Supplements Containing Ephedrine Alkaloids. J. Am. Med. Assoc. 1997, 278, 15.
15. Blanc, P. D.; et al. Use of Herbal Products, Coffee or Black Tea and Over the Counter Medications as Self-Treatments Among Adults with Asthma. J. Allergy. Clin. Immunol. 1997, 100, 789—791.
16. Lin, S. H.; Lin, M. S. A Survey on Drug-Related Hospitalization in a Community Teaching Hospital. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. 1993, 31, 66—69.
17. Piscatelli, S. C.; Burnstein, A. H.; Chaitt, D.; et al. Indinavir Concentration and St. John's Wort. Lancet 2000, 355, 547—548.

Y

18. Ruschitzka, F.; Meier, P.; Turina, M.; et al. Acute Heart Transplant Rejection Due to St. John's Wort. Lancet 2000, 355, 548—549.
19. Geatti, O.; Barkan, A.; Turrin, D.; et al. L-Thyroxine Malabsorption Due to the Ingestion of Herbal Remedies. Thyroidol. Clin. Exp. 1993, 5, 97—102.
20. Murphy, J. M. Preoperative Considerations with Herbal Medicines. AORNJ 1999, 69 (1), 173—183.
21. Weisbord, S. D.; et al. Poison on Line: Acute Renal Failure Caused by Oil of Wormwood Purchased Through the Internet. N. Engl. J. Med. 1997, 337, 825—827.
22. Cantor, C. Kava and Alcohol. Med. J. Aust. 1997, 167 (10), 560.
23. Spillane, P. K.; et al. Neurological Manifestations of Kava Intoxication. Med. J. Aust. 1997, 167 (3), 172—173.
24. Heiligenstein, E.; et al. Over-the-Counter Psychotropics: A Review of Melatonin, St. John's Wort, Valerian and Kava-Kava. J. Am. Coll. Health 1998, 46 (6), 271—276.

（于垂亮 译）

药用着色剂

David R. Schoneker
Colorcon, West Point, Pennsylvania, U. S. A.

引言

1. 药剂学对颜色的需要

有证据显示从古代就开始对药剂进行着色，尽管在药物中使用着色剂不能产生直接的疗效，但其心理学作用早已为人们所知。

药物制剂的着色在生产和分发过程中对于识别药物极为重要。许多患者依靠颜色来识别处方药和适当的剂量。通过仔细选择颜色可使患者更易于接受不吸引人的药物。着色剂与矫味剂联用，可以掩盖药剂处方中组分产生的令人不喜欢的味道。着色剂的这些特性有助于提高患者的依从性，而依从性是患者在家里用药治疗时一个非常重要的问题。

另外，最近的报告指出已发生的药物误用的范围和程度都是令人担忧的。尽管大多数药物误用问题都与医生和医院有关，但还有一些问题是由于药剂师和患者错误识别药物造成的。市场上销售的许多药品看起来非常相似（如小的、圆形、白色、未包衣片），仅仅依靠很小的浮饰或印制的商标和标识符辨别，这就使药剂师或患者很容易将一种药物同另一种相混淆。显然，对于不同的药物这可能是非常严重的。所以对不同的药物和剂量使用不用的颜色有助于解决这些问题。

2000 版《美国药典》委员会提出了一种解决方法，即制定剂型一致性的标准，包括颜色、形状、大小、标识和包装。这些标准有助于研发具有颜色和其他能更容易识别特定药物特性的新药产品。尽管由于需要大量的支持资料和行政审批，改变已有药品的颜色非常困难，但这些标准对未来的开发仍是有益的。

2. 着色剂在食品、药品和化妆品领域使用的历史

大量的历史文献描述了许多来源于动物、植物或矿物的颜料应用于食品、药品和化妆品的染色。直到 19 世纪中叶，所有的颜料都来源于自然资源。考古学家可将化妆品颜色的历史追溯到公元前 5000 年。古埃及手稿曾提到药物着色剂，历史学家认为食品颜料大概出现于公元前 1500 年。

合成颜料工业可以追溯到 1856 年第一个合成有机颜料（苯胺紫）的偶然发现。William Henry Perkin 爵士在一次不成功的奎宁合成实验中，通过氧化苯胺成功获得了一种紫色的颜料。这一发现导致了其他科学家的试验，并发现了许多比天然色素和提取物具有更优越特性的新颜料。这些新的不同的颜料很快就应用于食品、药品和化妆品，因为它们能提供优越的着色值、稳定性和多种色度。

从 1900 年开始，大量化学合成颜料来源于奎宁，一种纯品、具有毒性的石油产品。最初，它们有着“煤焦油”颜料的绰号，是由于原料来源于烟煤。在确保安全应用的前提下许多这些颜料今天仍在使用。

尽管 20 世纪初仍在使用来源于动物、植物和矿物的颜料，那些颜料曾经是唯一的着色剂，制造商们受到强烈经济利益的驱动将其逐步淘汰。化学合成颜料生产容易，成本低，染色性能优越（只需要很少的量），易于混合，而且不会给食物和药品带来讨厌的味道。但是随着使用的增加，安全性考虑也要增加。

早期合成颜料的使用有时候对于健康构成很大的威胁，因为使用的时候不区别有毒和无毒颜料。全球范围对公众卫生的关注不断增加，导致了较早的研究和规范，形成了各种适合于添加到食物和药品中的颜料列表。

美国是最早开始规范食品和着色添加剂的国家之一，因为发生了一系列与这类材料安全性有关的事件。1906 年，美国国会通过了纯食品和药物法案。它是第一部允许联邦政府检查和控制添加剂使用的法律。然而，这部法案只涉及食品着色剂。

在 Bernhard Hesse 博士工作的基础上，1906 年的《纯食品和药物法案》列举了 7 种着色剂，并且农业部在自愿的基础上为所有的食品着色剂提供认证。

直到 1938 年的《联邦食品、药品和化妆品法案》（FD&C）通过，FDA 的管辖包括所有范围的颜料指定，消费者仍然可以在产品包装上看到这样的字样：FD&C（允许在食品、药品和化妆品范围内使用），D&C（用于食品和化妆品）和 Ext . D&C（外用药品和化妆品颜料）。1938 年的 FD&C 还强制要求认证。

1938 年法案后出现的公众听证会和法规使用数字以区分颜料的色调。这些字母与数字的组合（如 FD&C blue # 1 或 D&C red # 17）使区分用于食品、药品或化妆品的着色剂同那些用于纺织品和其他用途颜料变得很容易。只有 FDA 认可的着色剂才能够使用这些特殊的名称。

这部法案还设立了一系列的“色淀”清单。某些认可颜料的水不溶性形式可用于包衣片、甜饼填料、糖果和其他产品，在这些产品中着色剂的渗色会影响产品的质量或产生问题。

尽管这部 1938 年法案对于在严格控制下使用着色剂做了大量工作，但颜色着色剂仍存在很多问题。20 世纪 50 年代发生了一起事故，许多孩子由于食用了含有大量着色剂 FD&C orange # 1 的万圣节糖果和爆米花感染了痢疾，使

得 FDA 重新评价食品着色剂。结果，在 1960 年对 1938 年的法案进行了修订，扩大了 FDA 的权利，允许其对在食品、药品和化妆品中的着色剂安全使用量加以限制。

FDA 还制定了上市前的审批程序，要求着色剂生产商保证其产品在投放市场前是安全的并正确标签的。一旦安全问题再次发生，着色剂就会被再次审查。1960 年的措施将那些已上市的色彩添加剂列入“临时”列表中，允许在 FDA 的安全性结论出来之前这些着色剂可以继续使用。

1960 年最初包括颜料和色淀在内的大约 200 多种临时列出的着色剂中，只有一些色淀仍然在临时列表中。企业撤回或 FDA 禁止了许多着色剂的使用，而剩下的则仍在使用。一些来源于煤炭或石油的着色剂经过认证可以携带 F、D 或 C 的字首。其他免于认证的着色剂是来源于动物、植物和矿物的色素和颜料，广泛应用于食品、药品和化妆品。

大多数工业化国家都执行了相似的行动，制定了很多法规来控制颜色添加剂在食品和药品中的使用。尽管大多数国家严格管理食品和药品着色剂，但在第三世界一些国家里情况却不是这样。此外，一些国家化妆品着色剂的管理不如食品和药品着色剂那样严格。所以，当使用来自第三世界国家的着色剂时必须仔细评价它们的品质，以确保其符合上市国家的要求。

3. 世界范围的法规要求

3.1 安全性评价

毒理学研究通常由一些组织如世界卫生组织（WHO）、美国食品药品监督管理局（FDA）和欧盟委员会（EC）在世界范围内进行毒理学研究以评价着色剂在不同应用中的安全性。已有很多文章是关于评价食品着色剂的安全性[1~6]。科学和公众的观念对安全性的真正解释存在不同，这些观点影响了全世界食品与药品规章的发展。

尽管这些着色剂有着良好的安全纪录，但消费者仍担忧某些合成颜料的过度兴奋作用和过敏性。

尽管在 20 世纪 70 年代这些理论很流行，但从那时起进行的研究结果表明，食品和药品着色剂如偶氮颜料（FD&C yellow ＃5、D&C yellow＃6 等）并没有导致儿童多动症或学习障碍。一个国立卫生研究所的共识发展专家小组在 1982 年得出结论，并没有充分的证据显示着色剂或食品添加剂会导致多动症。这个委员会指出不应该广泛使用排除饮食法来治疗儿童的多动症，因为没有科学的证据显示对孩子有利。FDA 的咨询委员会在 1986 年得出关于食物组分的过敏性的结论，FD&C yellow ＃5（柠檬黄）引起荨麻疹的概率小于万分之一。该委员会发现没有证据表明食品中的色彩添加剂会引起哮喘，或阿司匹林过敏者会对着色剂交叉过敏。随着其他着色剂准许用于食品和药品，每当在药品和食品中使用 FD&C yellow ＃5 时，须在产品标签列出，这样可使小部分对着色剂过敏者避免使用。但在 80 年代早期，这些报告出来之前，考虑到过敏性，联邦法典（CFR）第 21 条规定要求 FD&C yellow ＃5 有另外的标志。这一规定（201.20）仅对处方药要求除标签说明产品含有 FD&C yellow ＃5 外还必须具有这样一条警告语：“该产品含有 FD&C yellow ＃5（柠檬黄），会对某些易感人群造成过敏反应（包括支气管哮喘）。尽管在人群中 FD&C yellow ＃5（柠檬黄）过敏性事件发生概率很低，但在阿司匹林过敏者中较为常见”[7]。

考虑到这种类型反应同市场上很多强致敏性产品相比发生的概率很低，以及 FDA 的咨询委员会对食物组分的致敏性和国立卫生研究所的共识发展专家小组所得出的结论，这些警示未免过于谨慎了。然而，根据美国现在的规定仍需对处方药使用这些声明。

在非处方药品和食品中并没有类似的警告语。事实上与处方药相比，人们可能会更多地接触这些产品中的 FD&C yellow ＃5。因此，根据现有的资料，这一规定似乎并不合理。尽管工业界要求废除这一规定，FDA 至今为止并没有采取任何措施。这对于 FD&C yellow ＃5 造成超敏反应和变态反应的真实数据产生了很大的混乱。由于市场上的混乱，大多数制药公司停止了这种着色剂在处方药中的使用，就不需要在其产品上贴出那个令消费者担心的误导标签。

令事情变得更复杂的是，欧洲也要求针对大量的合成着色剂在药品上加过敏标签，这表明需要这种标签充足的科学证据并不明显，这种需要似乎更多建立在非科学的消费者关心上而不是任何真实的需要。考虑到缺乏证据说明 FD&C yellow ＃5（柠檬黄）和其他偶氮颜料如 FD&C yellow ＃6（日落黄 FCF）引起任何严重的显著的过敏反应或变态问题，除了极少数情况，将着色剂作为成分在药物标签上列出显得十分必要。这类标签要求早已应用于大多数工业化国家，并适当控制受这些着色剂影响的少数人能够酌情使用。

3.2 不一致的法规

有关颜色添加剂使用的政府法规变化频繁，因而完整和准确地列出在国际药学开发中所使用的着色剂很困难。

尽管法律的原则非常相似，有关颜色添加剂及其使用的法规在不同的国家中差别很大。这些差别导致在一个国家可以使用某些着色剂而在另一个国家却不允许。这对药物处方设计者选择一种适用于全球药物开发的着色剂产生了很大的挑战。

除了评价某个特殊的着色剂在某些国家是否批准用于特殊用途，注意每个着色剂必须满足的规范会随着地区不同而明显变化是很重要的。

例如，氧化铁类是一类有名的可在全球使用的着色剂。在世界上大多数国家它都可以在药品中使用。然而，在美国、欧洲和日本的法规中对于不同的氧化铁要求相差很多，这意味着市场上只有某些氧化铁可以满足所有的法规。在大多数情况下，这些级别的产品必须接受很多的测试以保证可被接受，从而影响其成本。

如果处方设计者没有极其谨慎地选择一个合适的级别，

那么采用该级别的材料制成的剂型只能在某一些国家上市，而在别的国家不可以。如果生产商决定以后要将产品在其他的国家上市的话，这意味着要研制多种规格的药物。这类研制的成本很高，有可能通过在药物早期开发过程中谨慎选择满足目标市场所有要求的着色剂级别来消除这种成本。显然，这要求药品生产商为一个特殊产品预先确定所有预期的目标市场。历史上很多公司没有做这方面工作，直到药品已进行多项研究和甚至通过管理审查。到这一阶段再改换着色剂就变得很困难了。

另一个进一步说明这个问题的有趣例子是美国和欧洲在 D&C yellow #10 和喹啉黄法规上的不同。尽管色度(CI)编号相同，这些颜料在法规中所定义的组分有所不同。欧洲标准 94/45/EC 确定喹啉黄的纯度标准为 E104，要求其原料中双磺酸盐成分不小于 80%而单磺酸盐成分不大于 15%的颜料[8]。D&C yellow #10 列入 U.S.21CFR (74.1710)，要求颜料含有不小于 75%的单磺酸盐成分和不大于 15%的双磺酸盐成分的颜料[9]。

这些规范相互矛盾，意味着如果药剂师需要来源于这些着色剂的颜色，就必须有两个规格的药品，使产品在美国和欧洲都可以上市。

因为没有先例，这两个规格的颜料目前在日本都不允许在药品中使用。如果生产商在一个新药中使用了这些颜料并且提供了足够的安全性数据使日本管理当局相信这一着色剂是安全的，那么这一颜料就很可能获得批准使用。然而，在实际中大多数公司避免在日本使用这种没有先例的着色剂，因为这会推迟药物的批准。

3.3 附加的美国法规要求——FDA 认证

所有在美国使用的着色剂都要按照 1938 年和 1960 年的 FD&C 颜色添加剂修正法案的规定接受 FDA 管理。1960 年的法规定义着色剂为“经过合成或相似的人工过程(或提取、分离)或别的来源于植物、动物、矿物或其他来源的，有或者没有中间的或最后的特性改变的任何颜料、色素或其他物质，并且当添加或应用于食品、药品或化妆品，或用于人体及其任何部分时，可以(单独或通过与其他物质发生反应)在其上给出一种颜色”[10]。

1960 年，颜色添加剂修正法案还分别列出了那些需要认证和免于认证的颜色添加剂。该法案确定列于临时清单的颜色添加剂可以使用，直到科学调查证明它们可以列入永久清单中。永久和临时清单中的着色剂见表 1 和表 2[11]。

认证程序要求认证着色剂的生产商向 FDA 提交每批颜料的样品用于化学分析。如果分析结果符合 CFR 的要求，就会分配到一个认证批号，并且会给那批样品发一个证书。需要认证的着色剂没有获得 FDA 认证就不能在美国合法使用。另外，应在所有有关使用这些着色剂的文件中引用认证批号。

这一程序使 FDA 确定某种着色剂生产所有的批与原先在毒理学研究中使用的批是化学一致的。毒理学研究是着色剂认可的基础。

表 1 2000 年经美国认证永久列入的颜色添加剂清单[1)]

颜色	通用名	颜料索引号	CAS 登记号	21CRF 参考			医疗装置
				食品	药品	化妆品	
FD&C blue #1	亮蓝 FCF	42090	3844-45-9	74.101	74.1101	74.2101	—
FD&C blue #2	靛蓝	73015	860-22-0	74.102	74.1102	—	—
D&C blue #4	α绿 FG	42090	6371-85-3	—	74.1104	74.2104	—
D&C blue #6	靛青	73000	482-89-3	—	—	—	74.3106
D&C blue #9	阴丹士林蓝	69825	130-20-1	—	74.1109	—	—
D&C brown #1	间苯二酚棕	20170	1320-07-6	—	—	74.2151	—
FD&C green #3	坚牢绿 FCF	42053	2353-45-9	74.203	74.1203	74.2203	—
D&C green #5	茜素花青绿 F	61570	4403-90-1	—	74.1205	74.2205	—
D&C green #6	酮茜绿 SS	61565	128-80-3	—	74.1206	74.2206	74.3206
D&C green #8	浓缩荧光绿	59040	63-58-69-6	—	74.1208	74.2208	—
orange B	—	19235	—	74.250	—	—	—
D&C orange #4	橙 11	15510	633-96-5	—	74.1254	74.2254	—
D&C orange #5	二溴荧光素	45370：1	596-03-2	-	74.1255	74.2255	
D&C orange #10	二碘荧光素	45425：1	38577-97-8	—	74.1260	74.2260	—
D&C orange #11	赤藓黄钠	45425	38577-97-8	—	74.1261	74.2261	
[phthalocyaninato (2-)] copper	铜酞菁	74160	147-14-8	—	—	—	74.3045
FD&C red #3	赤藓红	45430	16423-68-0	74.303	74.1303	—	—
FD&C red #4	丽春红 SX	14700	4548-53-2	—	74.1304	74.2304	—
D&C red #6	立索玉红 B	15850	5858-81-1	—	74.1306	74.2306	—
D&C red #7	立索玉红 B 钙	15850：1	5281-04-9	—	74.1307	74.2307	—
D&C red #17	苏丹红	26100	85-86-9	—	74.1317	74.2317	—

续表

颜色	通用名	颜料索引号	CAS登记号	21CRF参考			医疗装置
				食品	药品	化妆品	
D&C red #21	四溴荧光素	45380：2	15086-94-9	—	74.1321	74.2321	—
D&C red #22	曙红	45380	17372-87-1	—	74.1322	74.2322	—
D&C red #27	四氯四溴荧光素	45410：1	13473-26-2	—	74.1327	74.2327	—
D&C red #28	焰红颜料 B	45410	18472-87-2	—	74.1328	74.2328	—
D&C red #30	赫林顿桃红 CN	73360	2379-74-0	—	74.1330	74.2330	—
D&C red #31	亮湖红 R	15800：1	6371-76-2	—	74.1331	74.2331	—
D&C red #33	酸性品红	17200	3567-66-6	—	74.1333	74.2333	—
D&C red #34	枣红 B 色淀	15880：1	6417-83-0	—	74.1334	74.2334	—
D&C red #36	焰红	12085	2814-77-9	—	74.1336	74.2336	74.3230
D&C red #39	Alba 红	13058	6371-55-7	—	74.1339	—	—
FD&C red #40	阿洛拉红 AC	16035	25956-17-6	74.340	74.1340	74.2340	—
FD&C red #40 Lake	阿洛拉红 AC	16035：1	68583-95-9	74.340	74.1340	74.2340	—
Citrus red #2	—	12156	6358-53-8	74.302	—	—	—
D&C violet #2	茜粗酚红紫 SS	60725	81-48-1	—	74.1602	74.2602	74.3602
Ext. D&C violet #2	茜素紫	60730	4430-18-6	—	—	74.2602	—
FD&C yellow #5	酒石黄	19140	1934-21-0	74.705	74.1705	74.2705	—
FD&C yellow #6	日落黄 FCF	15985	2783-94-0	74.706	74.1706	74.2706	—
D&C yellow #7	荧光素	45350：1	2321-07-5	—	74.1707	74.2707	—
Ext. D&C yellow #7	萘酚黄 S	10316	846-70-8	—	74.1707a	74.2707a	—
D&C yellow #8	荧光素钠	45350	518-47-8	—	74.1708	74.2708	—
D&C yellow #10	喹啉黄 WS	47005	8004-92-0	—	74.1710	74.2710	74.3710
D&C yellow #11	喹啉黄 SS	47000	8003-22-3	—	74.1711	74.2711	—

1）根据 21 CFR 2000。可能限制一些颜料用于特定的用途（即只能在外用药品中使用等）。另外，某些颜料可能有用量的限制。应检查每个颜料特定的 21 CFR 索引以确定可能的限制情况。

表 2 2000 年经美国认证暂时列入的着色剂清单[1)]

颜料	通用名	CI 号	CAS 号	21 CFR 参考		
				食品	药品	化妆品
FD&C lakes	色淀	见个别颜料	见个别颜料	82.51	82.51	82.51
D&C lakes	色淀	见个别颜料	见个别颜料	—	82.1051	82.1051
Ext. D&C lakes	色淀	见个别颜料	见个别颜料	—	82.1051	82.1051
FD&C blue #1 lake	亮蓝 FCF	42090：2	53026-57-6	82.101	82.101	82.101
FD&C blue #2 lake	靛蓝	73015：1	16521-38-3	82.102	82.102	82.102
D&C blue #4 lake	子种绿 FG	42090	6371-85-3	—	82.1104	82.1104
FD&C green #3 lake	坚牢绿 FCF	42053	2353-45-9	82.203	82.203	82.203
D&C green #5 lake	茜素花青绿 F	61575	4403-90-1	—	82.1205	82.1205
D&C green #6 Lake	酮茜绿 SS	61565	128-80-3	—	82.1206	82.1206
D&C orange #4 lake	橙 II	15510：2	633-96-5	—	82.1254	82.1254
D&C orange #5 lake	二溴荧光素	45370：2	596-03-2	—	82.1255	82.1255
D&C orange #10 lake	二碘荧光素	45425：2	38577-97-8	—	82.1260	82.1260
D&C orange #11 lake	赤藓黄钠	45425：2	38577-97-8	—	82.1261	81.1261
FD&C red #4 lake	丽春红 SX	14700	4548-53-2	82.304	82.304	82.304
D&C red #6 lake	立索玉红 B	15850：2	17852-98-1	—	82.1306	82.1306
D&C red #7 lake	立索玉红 B 钙	15850：1	5281-04-9	—	82.1307	82.1307
D&C red #17 lake	Toney 色淀	26100	85-86-9	—	82.1317	82.1317
D&C red #21 lake	四溴荧光素	45380：3	15086-94-9	—	82.1321	82.1321
D&C red #22 lake	曙红	45380：3	17372-87-1	—	82.1322	82.1322
D&C red #27 lake	四氯四溴荧光素	45410：2	13473-26-2	—	82.1327	82.1327
D&C red #28 lake	焰红颜料 B	45410：2	18472-87-02	—	82.1328	82.1328
D&C red #30 lake	赫立顿桃红 CN	73360	2379-74-0	—	82.1330	82.1330

续表

颜料	通用名	CI 号	CAS 号	21 CFR 参考		
				食品	药品	化妆品
D&C red #31 lake	亮红色淀 R	15800：1	6371-76-2	—	82.1331	82.1331
D&C red #33 lake	酸性品红	17200	3567-66-6	—	82.1333	82.1333
D&C red #34 lake	枣红色淀 B	15880：1	6417-83-0	—	82.1334	82.1334
D&C red #36	Flaming 红	12085	2814-77-9	—	82.1336	82.1336
D&C violet #2 lake	茜粗酚红紫 SS	60725	81-48-1	—	82.1602	82.1602
FD&C yellow #5 lake	酒石黄	19140：1	12225-21-7	82.705	82.705	82.705
FD&C yellow #6 lake	日落黄 FCF	15985：1	15790-07-5	82.706	82.706	82.706
D&C yellow #7 lake	荧光素	45350：1	2321-07-5	—	82.1707	82.1707
Ext. D&C yellow #7 lake	萘酚黄 S	10316	846-70-8	—	82.2707a	82.2707a
D&C yellow #8 lake	荧光素钠	45350	518-47-8	—	82.1708	82.1708
D&C yellow #10 lake	喹啉黄 WS	47005：1	68814-04-0	—	82.1710	82.1710

1）根据 21 CFR 2000。可能限制一些颜料用于特定的用途（即只能在外用药品使用等）。另外，某些颜料可能有用量的限制。应检查每个颜料特定的 21 CFR 索引以确定可能的限制情况。

表 3　2000 年美国不需认证就允许使用的色彩添加剂清单[1)]

颜料	颜料索引号	CAS 号	21CRF 参考			医疗装置
			食品	药品	化妆品	
Algae Meal（Dried）	—	—	73.275	—	—	—
氧化铝	77002	1332-73-6	—	73.1010	—	—
铝粉末	77000	7429-90-5	—	73.1645	73.2645	—
胭脂树橙提取物	75120	8015-67-6	73.30	73.1030	73.2030	—
虾青素	—	—	73.35	—	—	—
β-APO-8-胡萝卜素醛	40820	1107-26-2	73.90	—	—	—
β-胡萝卜素	40800	7235-40-7	73.95	73.1095	73.2095	—
甜菜粉	—	57917-55-2	73.40	—	—	—
1，4-双［2-（甲苯）氨基］9，10-蒽二酮	—	6737-68-4	—	—	—	73.3105
枸橼酸铋	—	—	—	—	73.2110	—
氯化氧铋	77163	7787-59-9	—	73.1162	73.2162	—
铜粉	77440	7440-50-8 7740-66-6	—	73.1646	73.2646	—
碳酸钙	77220	471-34-1	—	73.1070	—	—
斑蝥黄	40850	514-78-3	73.75	73.1075	—	—
焦糖	—	—	73.85	73.1085	73.2085	—
咔唑紫	51319	6358-30-1	—	—	—	73.3107
胭脂红	75470	1390-65-4	73.100	73.1100	73.2087	—
胡萝卜油	—	—	73.300	—	—	—
叶绿酸铜复合物	75810	—	—	—	—	73.3110
铬-钴-铝氧化物	77343	68187-11-1	—	73.1015	—	73.3110[1)]
氢氧化铬绿	77289	12182-82-0	—	73.1326	73.2326	—
氧化铬绿	77288	1308-38-9	—	73.1327	73.2327	73.3111
C.I. Vat orange 1	59105	—	—	—	—	73.3112
胭脂虫红提取物	75470	1260-17-9	73.100	73.1100	—	—
玉米胚乳油	—	—	73.315	—	—	—
铜粉	77400	7440-50-6	—	73.1647	73.2647	—
1，4-双［（2-羟乙基）氨基］-9，10-蒽二酮双（2-丙烯酸）酯共聚物	—	10956-07-1	—	—	—	73.3100
1，4-双［4-（2-甲苯基）氨基］-9，10-蒽二酮	—	6737-68-4	—	—	—	73.3105
1，4-双［4-（2-甲基丙烯酰基乙基）苯胺］蒽醌共聚物	—	121888-69-5	—	—	—	73.3106

Y

续表

颜料	颜料索引号	CAS 号	21CRF 参考			医疗装置
			食品	药品	化妆品	
2-[[2，5-二乙氧基-4-[(4-甲苯基）硫醇]苯基]偶氮]-1，3，5-苯硫酚	—	—	—	—	—	73.3115
16，23-二氢二萘并[2，3-*a*：2′，3′-*i*]轻油[2′，3′：6，7]吲哚[2，3-*c*]卡唑-5，10，15，17，22，24-已酮	70800	2475-33-4	—	—	—	73.3117
N′，*N*′-(9，10-二氢-9，10-二氧-1，5-二蒽）二苯甲酰胺	61725	82-18-8	—	—	—	73.3118
7，16-二氯-6，15-二氢-5，9，14，18-二蒽并四酮	69825	130-20-1	—	—	—	73.3119
16，17-二甲氧基二萘并[1，2，3-*cd*：3′，2′，1′-1*m*]芘-5，10-二酮	59825	128-58-5	—	—	—	73.3120
4-[2，4-（二甲苯基）偶氮]-2，4-二氢-5-甲基-2-苯基-3*H*-吡唑-3-酮	—	6407-78-9	—	—	—	73.3122
二羟基丙酮	—	62147-49-3	—	73.1150	73.2150	—
EDTA 铜二钠	—	—	—	—	73.2120	—
6-乙氧基-2-（6-乙氧基-3-氧苯并[*b*]噻酚 2（3*H*）-内鎓）苯并[*b*]噻酚-3（2*H*）-酮	73335	3263-31-8	—	—	—	73.3123
枸橼酸铵铁	—	1185-57-5	—	73.1025	—	—
亚铁氰化铵铁	77510	25869-00-5	—	73.1298	73.2299	—
亚铁氰化铁	77510	14038-43-8	—	73.1299	73.2299	—
葡糖酸铁	—	299-29-6	73.160	—	—	—
乳酸铁	—	5905-52-2	73.165	—	—	—
果汁	—	—	73.250	—	—	—
葡萄色素提取物	—	—	73.169	—	—	—
葡萄皮提取物	—	—	73.170	—	—	—
愈创蓝油烃	—	489-84-9	—	—	73.2180	—
鸟嘌呤	75170	68-94-0，73-40-5	—	73.1329	73.2329	—
指甲花	75480	83-72-7	—	—	73.2190	—
合成氧化铁	77491（红） 77492（黄） 77499（黑）	1309-37-1 51274-00-1 12227-89-3	73.200	73.1200	73.2250	73.3125
乙酸铅	—	6080-56-4	—	—	73.2396	—
苏木提取物	75290	8005-33-2	—	73.1410	—	—
紫锰	77742	10101-66-3	—	—	73.2775	—
云母	77019	12001-26-2	—	73.1496	73.2496	—
辣椒粉	—	—	73.340	—	—	—
辣椒油	—	8023-77-6	73.345	—	—	—
叶绿酸铜钠钾	75180	—	—	73.1125	73.2125	—
酞菁绿	74260	1328-53-6	—	—	—	73.3124
聚（羟乙基异丁烯酸）-染料共聚物	—	—	—	—	—	73.3121
联苯三酚	76515	87-66-1	—	73.1375	—	—
叶蜡石	77004	8047-76-5	—	73.1400	73.2400	—
核黄素	—	83-88-5	73.450	—		—
臧红花	75100	42553-65-1，27876-94-4	73.500	—	—	—
银	77820	7440-22-4	—	—	75.2500	—
万寿菊粉和提取物	75125	—	73.295	—	—	—
滑石粉	77019	14807-96-6	—	73.1550	—	—
烤制棉籽粉	—	—	73.140	—	—	—
二氧化钛	77891	13463-67-7	73.575	73.1575	73.2575	73.3126
姜黄	75300	458-37-7	73.600	—	—	—

续表

颜料	颜料索引号	CAS 号	21CRF 参考			医疗装置
			食品	药品	化妆品	
姜黄精油树脂	75300	458-37-7	73.615	—	—	—
群青蓝	77007	57455-37-5	73.50	—	73.2725	—
群青绿	77013	—	—	—	73.2725	—
群青桃红	77007	12769-96-9	—	—	73.2725	—
群青红	77007	12769-96-9	—	—	73.2725	—
群青紫	77007	12769-96-9	—	—	73.2725	—
植物汁	—	—	73.260	—	—	—
乙烯醇/甲基异丁烯酸-染料反应物产品	—	—	—	—	—	73.3127
氧化锌	77947	1314-13-2	—	73.1991	73.2991	—

1）根据 21 CFR 2000。可能限制一些颜料用于特定的用途（即只能在外用药品使用等）。另外，某些颜料可能有用量的限制。应检查每个颜料特定的 21 CFR 索引以确定可能的限制情况。

不同地区获批准的着色剂类型

1. 美国认可的合成着色剂

FD&C 法案将合成颜料分为 3 类：①食品、药品和化妆品的颜料（FD&C）；②药品和化妆品的颜料（D&C）；③外用药品和化妆品的颜料（外用 D&C）。当今所有批准使用的合成着色剂都必须满足 CFR 第 21 条（74、81 和 82 部分）描述的规格、使用和限制。认证的合成着色剂是医药工业使用着色剂的主要来源。

1.1 FD&C 着色剂

目前的 FD&C 着色剂清单由颜料和色淀组成。色淀是一种水不溶性色素，通过散射和反射光线产生颜色。FD&C 颜料是水溶性的，通过透射光产生颜色。

FD&C 颜料：当今 FD&C 颜料是由来源于石化和其他资源的高纯度中间体制备的合成有机分子。由于这些原材料，FD&C 颜料与煤焦油相关联的恶名早已不存在了。它们以许多物理形式出售，如粉末、颗粒、糊剂、液体和分散体。定制成这些形式用于特定的用途，用户可以选择以满足其特殊应用。

由于化学结构的原因，颜料是相对不稳定的。其不稳定性有以下原因：①光强度；②氧化或还原剂；③微生物；④痕量金属；⑤pH；⑥高温。

不同颜料对这些因素的不稳定性和溶解度差异很大，在不同的应用中选择颜料时应加以注意。

FD&C 色淀：唯一允许用于所有三个类别——食品、药品和化妆品的色淀是铝色淀，它是通过在水化铝基材上吸附 FD&C 颜料的铝盐制备的。

这些色淀的性质可以通过改变制备过程的工艺条件加以控制（如原材料、添加顺序、pH 和温度）。铝色淀最重要的特性是色度和粒径分布。可以通过吸附到水化铝上颜料的量和粒径分布影响色淀的色度。粒径还会影响色素的着色力。小粒径增加了表面积，可以增加反射光，因而增强了颜色。

关于合法颜料的其他化学和特性的信息见参考文献[12]。

1.2 D&C 和外用 D&C 着色剂

D&C 和外用 D&C 着色剂可以在某些限制下着色药品和化妆品。FD&C、D&C、外用 D&C 着色剂法规的基本区别在于 D&C 和外用 D&C 着色剂有特定的用途和限制。目前区分 D&C 和外用 D&C 着色剂意义不大，因为许多 D&C 中列出的着色剂限制为外用。

D&C 和外用 D&C 着色剂可以以颜料或色淀的形式存在，但是大多数市场上主要的 D&C 和外用 D&C 着色剂都是色淀。

D&C 和外用 D&C 颜料：生产这类颜料使用的原材料与那些用作 FD&C 的颜料相似。D&C 和外用 D&C 颜料可以是水溶性的，也可以不是，一些是水不溶性金属盐，而另一些不溶水是因为它们没有水增溶基团。但是，有几个能在有机溶剂中溶解。

虽然有一些 D&C 颜料要比 FD&C 着色剂稳定，但在 D&C、外用 D&C 和 FD&C 颜料中都存在着相似的稳定性问题。

D&C 和外用 D&C 色淀：这些色淀通常通过将可溶性颜料沉淀在认可的基材上制备。对 D&C 颜料来说，基材通常是铝、硫酸钡粉、光泽白、二氧化钛、氧化锌、滑石粉、松香、苯甲酸铝、碳酸钙或这些材料的混合物。

FD&C 和 D&C 色淀之间的一个明显区别是 FD&C 色淀必须使用经认可的颜料制备，而 D&C 色淀则不受此要求的限制。但将来这个规定可能会改变，即要求所有的色淀都必须由以前认可的颜料制成。

D&C 颜料制成的色淀和其原材料有相同的用途和限制。

FD&C 色淀重要的物理性质如粒径和色度，对于 D&C 和外用 D&C 色淀一样重要。

Y

2. 在美国不需认证的着色剂

FD&C 法案不要求一些着色剂在使用前需通过 FDA 认证（表 3）。它们包括天然的有机和无机着色剂及一些合成的所谓的与天然物等同的着色剂，如 β-胡萝卜素。尽管它们不需要认证，但是它们的规格、使用和限制仍然受 FDA 管理。

大多数不需要认证的着色剂来源于动物、植物或矿物。多数无机色素是合成的，如二氧化钛、合成氧化铁和氧化锌。

无机着色剂通常在很多应用中具有优良的稳定性。它们对热和光不像其他类型的药用着色剂那么敏感。二氧化钛是适用范围很广的白色色素，其他的色素主要是土色的。

许多天然有机着色剂是从特殊的植物或昆虫中提取出来的，然后将提取物制成可用的形式。由于材料来源不同，每个着色剂的性质差别很大，还存在批间差异。由于使用的原材料类型和生产的难度等原因使这类材料非常昂贵。

大多数天然有机着色剂稳定性差，它们对热、光和环境非常敏感。目前，由于很难把它们加入到特定产品中，所以它们的使用受到限制。通常，这些着色剂具有较小的着色力，缺乏着色范围和使用合成着色剂可以获得的色彩重现性。某些情况下，还可以改变着色产品的味道。

人们设计了很多方案来提高天然有机颜料的稳定性。有很多新方法将这些着色剂加入到产品和工艺中去，但很少成功。尽管有一些原因需要使用天然有机着色剂，但是大多数情况下证明是不可行的。

目前进行的许多研究正努力发展使用不需认证的色彩添加剂。对一些新的着色剂和已有着色剂的新用途，FDA 会提交和审评色彩添加剂诉求。在以后的几年里，可以预见许多此类着色剂会得到批准用于美国的制药工业。

3. 各个国家的主要药用着色剂

如前所述，美国以外的国家在生产或上市的药品中使用着色剂时，非常重要的一点是在产品开发阶段就确立目标市场，因为国与国之间着色剂法规差别很大。可以由官方文件来评估特定国家批准的着色剂法规和要求[4,5,11,13~17]。另外，一些着色剂生产商还提供了一些着色剂的使用指导，这可能有帮助。

大多数欧洲国家根据欧洲规则列出了欧盟食品和药品中使用的着色剂及其规格。曾经控制欧洲批准的药用着色剂使用的规则是 78/25/EEC，它参考了 1962 规则中的着色剂清单[13,14]。EC 在 1994 年公布了欧洲规则 94/36/EC，很大程度上改变了食品用着色剂的清单。例如，Allura 红 AC（FD&C red ＃40）和亮蓝 FCF（FD&C blue ＃1）现在已批准用于食品，但是这些材料没有出现在已批准的药用着色剂的清单上，由于支持 1962 清单的制药规则可以交叉参考，这在工业和管理团体中引起了很大的混乱。

最近 EU 内部的讨论表明 94/36/EC 的着色剂清单将来会在新的药用颜料规则中合理化，从而使这些着色剂清单一致。尽管正式的规则还未最后完成，现在认为将这些着色剂用于新药申请还是可行的。然而，每个国家对这些着色剂在药剂中的使用都有特殊的规定，这点也必须要考虑。一些非会员国家如斯堪的纳维亚地区的国家，对合成颜料的使用限制非常严格，在某些情况下甚至完全反对。

欧洲规则 95/45/EC 列出了批准着色剂在欧洲使用的纯度标准[8]。由一个 EEC 号定义的每一个着色剂都有一个专论列出需要的试验和限度。这些规定并不指定试验使用的检测方法；然而，食品添加剂专家联合委员会（JECFA）的方法通常是可接受的。任何一个在欧洲使用的着色剂都必须符合这些规格，这些规格同别的国家使用的有所不同。

欧洲常用着色剂的清单见表 4。该表是以 94/36/EC 批准的着色剂为根据的[15]。

表 4　2000 年欧盟批准的药品着色剂[1)]

颜料	EEC 号[2)]	颜料索引号	别名
阿洛拉红 AC	E129	16035	FD&C red ＃40
铝	E173	77000	—
苋菜红[3)]	E123	16185	撤销的 FD&C red ＃2
胭脂树红	E160b	75120	胭脂树橙，原胭脂树
花青素	E163	—	—
甜菜根红	E162	—	甜菜苷
β-APO-8′-胡萝卜素醛	E160e	40820	—
β-APO-8′-类胡萝卜素酸乙酯	E160f	40825	—
亮黑 BN	E151	28440	Black PN
亮蓝 FCF	E133	42090	FD&C blue ＃1
棕 FK	E154	—	—
棕 HT	E155	20285	—
碳酸钙	E170	77220	—
斑蝥黄	E161g	40850	—

续表

颜料	EEC 号[2)]	颜料索引号	别名
焦糖	E150a	—	—
焦糖，-苛性亚硫酸盐	E150b		—
焦糖，-氨水	E150c	—	—
焦糖，亚硫酸氨	E150d	—	—
植物炭黑	E153	77268：1	植物性药用活性炭
胭脂红	E120	75470	胭脂红 40，胭脂虫红色淀，胭脂红酸色淀
淡红	E122	14720	偶氮玉红
胡萝卜素	E160a	75130	α、β和γ-胡萝卜素
混合胡萝卜	—	75130	—
β-胡萝卜素	—	40800	—
叶绿素/叶绿酸	E140	—	—
叶绿素	—	75810	—
叶绿酸	—	75815	—
叶绿素/叶绿酸铜复合物	E141	75815	—
叶绿素铜复合物	—	—	—
叶绿酸铜复合物	—	—	—
胭脂虫红	E120	75470	胭脂红酸
赤鲜红[3)]	E127	45430	FD&C red ＃3
金	E175	77480	—
绿 S	E142	44090	酸性亮绿 BS
酸性靛蓝	E132	73015	FD&C blue ＃2，靛胭脂红
氧化铁和氢氧化铁	E172	77491	氧化铁红
		77492	氧化铁黄
		77499	氧化铁黑
叶黄素	E161b	—	—
番茄红素	E160d	—	—
红椒提取物	E160c	—	辣椒黄素，辣椒红素
专利蓝 V	E131	42051	acid blue 3
丽春红 4R	E124	16255	大红 A
喹啉黄[4)]	E104	47005	中国黄
核黄素	E101	—	—
核黄素	—	—	—
核黄素-5′-磷酸盐	—	—	—
落日黄 FCF	E110	15985	FD&C yellow ＃6，orange yellow S
酒石黄	E102	19140	FD&C yellow ＃5
二氧化钛	E171	77891	—
姜黄	E100	75300	姜黄

1）这些颜料批准用于特定类型的药品，根据 EU 的法定理由，批准药用颜料的清单和那些规范食品用颜料的 EC 规则 94/36/EC 中列出的可以交叉参考[15]。某些颜料存在应用类型和使用量的限制。希望将来的新 EC 规则，能专门涵盖药用颜料，这有助于澄清这种情况。

2）一些颜料及其衍生物具有相同的 EEC 号。编号和小写字母辨别这些衍生物。

3）当前列出的这些颜料主要用于以前批准的药物。但应避免将这些颜料用于新药申请。

4）这不是 D&C yellow ＃10。虽然 C. I. 号相同，颜料的组成不同。喹啉黄主要是喹啉颜料的二磺酸盐，而 D&C yellow ＃10 是单磺酸盐颜料。喹啉黄不能在美国使用，相反 D&C yellow ＃10 不可以在 EU 使用。

注：用这张清单上列出的颜料制备的铝色淀也是认可的。

加拿大使用着色剂的法规和美国很相似，但也有区别。一些在加拿大批准使用的着色剂在美国不允许使用，反之亦然。加拿大药用着色剂法规列出的大多数着色剂通常可用于欧洲和美国，但存在一些区别。可在加拿大使用的药品着色剂见表 5[16]。

Y

表 5 2000 年加拿大批准使用的药品着色剂[1)]

颜料	别名	颜料索引号	CAS 号
A. 批准的外用和内服药品着色剂			
酸性品红 D	D&C red #33	17200	3567-66-6
茜素花青绿 F	D&C green #5	61570	4403-90-1
阿洛拉红 AC	FD&C red #40	16035	25956-17-6
解除上市资格的苋菜红	FD&C red #2	16185	915-67-3
β-APO-8′-胡萝卜素醛	—	40820	1107-26-2
亮蓝 FCF 钠盐	FD&C blue #1	42090	3844-45-9
亮蓝 FCF 铵盐	D&C blue #4	42090	6371-85-3
斑蝥黄	—	40850	514-78-3
焦糖	—	—	—
炭黑	—	77266	1333-86-4
胭脂红	—	75470	1260-17-9
淡红	azorubine	14720	3567-69-9
β-胡萝卜素	—	40800	7235-40-7
叶绿素	—	75810	479-61-8
曙红 YS酸式	D&C red #21	45380：2	15086-94-9
曙红 YS 钠盐	D&C red #22	45380	17372-87-1
赤鲜红	FD&C red #3	45430	16423-68-0
坚牢绿 FCF	FD&C green #3	42053	2353-45-9
焰红	D&C red #36	12085	2814-77-9
赫林顿粉红 CN	D&C red #30	73360	2379-74-0
靛蓝	D&C blue #6	73000	482-89-3
酸性靛蓝	FD&C blue #2	73015	860-22-0
氧化铁	氧化铁红	77491	1309-37-1
	氧化铁黄	77492	51274-00-1
	氧化铁黑	77499	12227-89-3
立索玉红 B 钠盐	D&C red #6	15850	5858-81-1
立索玉红 B 钙盐	D&C red #7	15850：1	5281-4-9
焰红颜料 B 钠盐	D&C red #28	45410	18472-87-2
焰红颜料 O 酸式	D&C red #27	45410：1	13473-26-2
丽春红 4R	—	16255	2611-82-7
丽春红 SX	FD&C red #4	14700	4548-53-2
喹啉黄 WS D&C	yellow #10	47005	8004-92-0
核黄素	—	—	83-88-5
日落黄 FCF	FD&C yellow #6	15985	2783-94-0
酒石黄	FD&C yellow #5	19140	1934-21-0
二氧化钛	—	77891	13463-67-7
茜粗酚红紫 SS	D&C violet #2	60725	81-48-1
胭脂树红	—	75120	—
氯化氧铋	—	77163	—
氢氧化铬绿	pigment green 18	77289	—
二溴荧光素（溶剂红 72）	D&C orange #5	45370：1	—
深褐红色	D&C red #34	15880：1	6417-83-0
鸟嘌呤	—	75170	—

续表

颜料	别名	颜料索引号	CAS 号
橙 11	D&C orange #4	15510	633-96-5
锰紫	—	77742	—
云母	—	77019	—
浓吡喃	D&C green #8	59040	6358-69-6
酞茜绿 SS	D&C green #6	61565	128-80-3
苏丹红	D&C red #17	26100	85-86-9
荧光素钠酸式	D&C yellow #7	45350：1	2321-7-5
荧光素钠盐	D&C yellow #8	45350	518-47-8
氧化锌	—	77947	—

B. 使用任何上述颜料在铝、硫酸钡粉、光泽白、黏土、氧化锌、滑石粉、松香、苯甲酸铝、碳酸钙或这些材料的混合物基材上的制备品

C. 使用 A 部分列出的任何颜料的钠、钾、铝、钡、钙、锶或锆盐在铝、硫酸钡粉、光泽白、黏土、氧化锌、滑石粉、松香、苯甲酸铝、碳酸钙或这些材料的混合物底物上的制备品

1）根据加拿大卫生部关于着色剂的食品和药品法规 Part C. 01. 040. 2（1995 年 8 月 30 号）[16]。

在日本，MHW 的“药用焦油颜料的部颁条例”（1966 年 8 月 31 号的 NO. 30）规范了药用着色剂[17]。这一规范包括合成着色剂的清单及其详细说明。1993 年，MHW 重新审查了这些规范，并且提议对其更新，但是官方当时并没有对这些提议采取任何行动。因此，1966 法规仍然有效。在日本根据着色剂必须以痕量存在的要求，大多数合成着色剂存在用量限制。这些痕量要求通常指的是 BIRYO 限制。BIRYO 限制合成着色剂口服给药的使用量不大于 0.1%，按着色剂（色淀或颜料）的质量计算。

根据先例其他非合成着色剂可作为药用接受。《日本药用辅料目录》（JPED）列出了这些着色剂及其《日本药典》（JP）或 JPE 规格[18]。

日本常用药用着色剂见表 6。表 6 并不包括所有可用的着色剂，但突出了具有显著商业用途的主要着色剂及其含量限制信息。

表 6　2000 年日本批准内服使用的药用着色剂[1)]

颜料	别名	颜料索引号	CAS 号
酸性红	acid red #52	45100	—
苋菜红[2),3)]	结束上市资格的 FD&C red #2	16185	915-67-3
亮蓝 FCF 钠盐[2)]	FD&C blue #1	42090	3844-45-9
焦糖	—	—	—
胭脂红	—	75470	1260-17-9
β-胡萝卜素	—	40800	7235-40-7
叶绿素铜[4)]	—	—	—
赤藓红[2)]	FD&C red #3	45430	16423-68-0
亮绿 FCF[2)]	FD&C green #3	42053	2353-45-9
靛蓝[2)]	FD&C blue #2	73015	860-22-0
氧化铁红[5)]	氧化铁红 JPE	77491	1309-37-1
氧化铁黄[6)]	氧化铁黄 JPE	77492	51274-00-1
氧化铁黑[7)]	氧化铁黑 JPE	77499	12227-89-3
焰红颜料 B 钠盐[2)]	D&C red #28	45410	18472-87-2
丽春红 4R[2)]	- -	16255	2611-82-7
核黄素	—	—	83-88-5
核黄素丁酸盐[8)]	—	—	—
核黄素磷酸钠[9)]	—	—	—
玫瑰红	acid red #94	45440	—

续表

颜料	别名	颜料索引号	CAS 号
叶绿素铜钠[10]	—	—	—
日落黄 FCF[2]	FD&C yellow #6	15985	2783-94-0
酒石黄[2),3)]	FD&C yellow #5	19140	1934-21-0
二氧化钛	—	77891	13463-67-7
姜黄提取物	姜黄	75300	458-37-7
植物炭黑[11]	—	77268：1	1333-86-4

1）根据 MHW 的“药用焦油颜料的部颁条例”（1966 年 8 月 31 号的 NO. 30）。这些颜料的铝色淀也是认可的。

2）在一个制剂中可以使用不大于 0.1%的量，按颜料（色淀或颜料）的质量计（BIRYO 对痕量的限制）。

3）允许但不鼓励用于新药开发的颜料。

4）不大于 1.8mg/d。

5）不大于 95.4mg/d。

6）不大于 5.67mg/d。

7）不大于 1.539mg/d。

8）不大于 0.4mg/d。

9）不大于 2.0mg/d。

10）不大于 75mg/d。

11）在日本用于生产必须符合药用炭 JP 规格。

注：4）～10）——《日本药用辅料目录》（JPED）2000 的日本版本中列出的惯用限量[18]，这种限量表示患者在使用特定的制剂时每天应消耗的最大颜料剂量。

大多数国家基于当地添加剂批准系统都有一套它们自己的有关食品和药品着色剂的特定法规。因为由当地评价，这些法规差异很大，当以这些国家为目标市场选择着色剂时，必须评估这些法规。

世界上一些国家使用 JECFA 推荐的着色剂及其规格，JECFA 是由国际食品和农业组织（FAO）和世界卫生组织（WHO）组织的[4,5]。在许多情况下，这些国家批准使用的药品着色剂同时也是食品着色剂。

不同剂型的着色系统

一旦确定可以在目标市场批准使用的着色剂，就应评价其他的性能指标。为一个特定的应用选择着色剂，首先要考虑的就是要添加着色剂的处方类型。

无论选用何种形式的着色剂，都必须符合一定的标准，即：

- 必须是不反应的；
- 应该是应用最稳定的形式；
- 应该很容易添加到所使用的系统中；
- 应该符合美学标准；
- 不应该给产品增加任何令人不愉快的气味和味道。

1. 片剂

1.1 包糖衣

包糖衣工艺包括几个步骤，并且成功与否取决于最后产品的外观。为了获得成功，必须使用高度熟练的工人，并在整个过程中必须特别留意。过去，因为这些原因，包糖衣是一个在包衣片生产中非常费时的过程。包糖衣过程分几步操作，包括包隔离层、包底衣、滚圆、着色和抛光。

根据本章的目的，仅讨论着色这一步，这可能是操作中最严格的部分之一。给片剂着色，在某些情况下决定其最后的大小。

在 20 世纪 50 年代之前，固体制剂的传统有色包衣通常使用水溶性染料作为首选的着色剂。这一系统可以得到最美观的片子，但在加工过程中也会出现多困难，这通常跟染料的水溶性有关。如果没有恰当处理每次应用着色剂后的染色阶段就会很容易出现色彩迁移，这导致了色彩不均匀或色斑。片剂表面的小凹窝或不规则可能会引起色彩不均匀。这可能是由于凹窝中染料的浓度不同。在着色前必须包很多的光滑衣层。

为了达到较好的色彩搭配，必须仔细控制包衣过程，还要注意不能着色过浓。糖衣液增加染料浓度是为达到色彩匹配和控制色斑。这一操作可能要进行 20～60 次以使颜色完全展开。

所有前面提到的问题使着色的批间重现性很难实现。很明显为达到尽可能好的结果需要熟练的包衣技巧，由此可见染色包糖衣是一个非常费时而且巧妙的操作。

20 世纪 50 年代后期，色素包糖衣工艺有了进一步发展，并且由 Nicholson 和 Tucker 申请了专利[19]。这一发明的颜料组分主要是分散在糖衣液中的铝色淀和遮光剂。这一体系能够得到亮色美观的片剂，并且解决了普通包糖衣技术中的许多问题。

使用不溶性色淀有以下几个好处：

• 因为它们的不溶性使干燥步骤可以很快完成，所以不存在色彩迁移；

• 系统的不透明性减少了片剂表面不平的影响也就减少了色斑；

• 不存在过分着色的问题（因为体系是不透明的，只会产生一种色度）；

• 整个着色过程只需少数几步，这样就节省了很多时间，而最终产品仍具有所有标准糖衣片的性质，还有更好的光稳定性，并减少了原料的成本；

• 完全解决了与着色重现性有关的许多问题，最终片剂的颜色由包衣前色素分散体的颜色预设。

所有这些优点导致色素系统几乎取代了可溶性染料包糖衣过程。

如果这些色素能够充分分散在糖浆中，就可以有效使用。分散色素显然要比溶解染料难。色素的灰尘特性有时需要使用空气过滤和粉尘捕获系统，避免污染车间的其他区域。

目前有许多生产商提供预先配色、预分散的色素包糖衣浓缩液。这些浓缩液可以很容易加入到糖浆包衣液。这些浓缩液使用方便，生产商能实现批间的重现性，使这些产品成为非常吸引人的自配分散液替代品。

1.2 薄膜包衣

薄膜包衣发展于 20 世纪 50 年代早期，有助于解决与包糖衣相关的许多问题。它涉及在基材（如片剂、颗粒和胶囊）的表面使用一种形成薄膜衣的聚合物。除了聚合物，薄膜中还包括增塑剂和着色剂，这是获得最终剂型期望的性质所需要的。

聚合物和增塑剂通常溶于溶剂中以形成包衣液，着色剂也溶解或分散在包衣液中。最初的薄膜衣包衣系统用有机溶剂作溶剂，现在出于环境因素水性系统大部分取代了有机溶剂。

由于溶解性的限制，使用有机溶剂时就不能使用水溶性染料。在水性薄膜衣系统中，水溶性染料可以作为着色剂。然而，薄膜包衣也会出现在糖包衣过程中观察到的许多有关颜色迁移的相同问题。另外，因为薄膜衣相对较薄，很小的厚度差别就可以导致明显的颜色差异。应用遮光染料系统已有一些成功的例子，然而这些系统跟色素包衣相比具有更差的光不稳定性。

这些处方选择的着色剂大都是色淀和无机色素。除了提供颜色，色素同染料相比还可以减少湿气透过膜扩散，还能提高光稳定性[20]。

再次强调，这些色素很好地分散于系统中是非常重要的，它可以给予片剂最佳颜色和优美的外观。因为在包衣液中分散这些色素是一项困难的任务，所以建议使用市场上预先分散配好色的色素浓缩液。这些浓缩液可以是液体形式也可以干粉形式。干粉形式可以包含薄膜包衣系统需要的所有成分，并可直接在包衣锅内分散于水中或其他溶剂。

1.3 着色湿颗粒

在制粒过程的黏合剂中溶解水溶性染料是片剂着色最普通的方法。然而，在颗粒的干燥过程中，可溶性染料可能会迁移，而且如果使用多种颜料，这些染料可能会以不同的速度迁移，这会导致颗粒着色不均匀，在压片后会出现色斑。一些添加剂，如淀粉、黏土和滑石粉可以用来吸附染料，可以减少但不能完全消除迁移。

这个问题可以通过应用色淀或其他色素避免。因为具有不溶性，所以这些着色剂不会迁移，另外，还可改善产品的光稳定性。

1.4 直接压片

人们对直接压片的兴趣越来越大，主要是经济的原因。直接压片减少了制备的步骤，许多可用的直接压片辅料简化了片剂处方。直接压片处方只需要黏合剂。因为没有湿法步骤妨碍可溶性颜料的有效使用，所以直接压片可以使用色淀和其他色素。

加色素的片剂干色存在问题。尽管发生色彩迁移的机会很小，但色素在粉末中混合差会导致出现色斑和“热点”。通过在与全部辅料混合之前预先混合色素与一小部分其他组分可以解决这一问题，也可以减少色素颗粒的聚集。色素加入处方的容易程度取决于混合物的成分。在极端的情况下，需要研磨以达到足够的分散。

2. 硬胶囊

硬胶囊是通过熔融明胶着色，在模具上冲制成半个胶囊壳。然后干燥、剥离、修齐和配对。胶囊主要用 FD&C 或 D&C 着色剂染色，有时还加入二氧化钛等遮光剂。

透明型胶囊使用水溶性染料着色。这些颜料溶液简单加入到明胶熔化物中。明胶的 pH 很重要，因为它能改变颜料的色度。控制胶囊壁的厚度也很重要，因为厚度变化会改变颜色的亮度。如果活性成分是光敏性的，建议使用遮光胶囊。遮光胶囊含有色素（或颜料）和遮光剂。着色剂通常溶解或分散于水、甘油或者其混合物中，然后加入到明胶混合物中。壁厚度很少影响遮光胶囊的色度。

最近旋转印刷领域的发展使生产商可以用颜色区分胶囊，通过使用有色印刷墨水在胶囊体上印刻不同宽度和颜色的环。这些墨水通常使用色素染色，因为色素有很好的光稳定性。如果需要明显的色带，也可使用染料。

3. 液体产品

清澈的液体产品外观依赖于溶液的颜色和澄明度。应使用完全溶解于特定溶剂并达到所需浓度的颜料。许多时候选择染料，是因为与产品的气味（如红色用于樱桃或黄色用于柠檬）相一致。

在液体系统中，也必须仔细考虑影响染料色度和稳定性的因素。这些因素包括 pH、微生物活性、最终产品包装的曝光和染料与其他成分的相容性。大多数染料的色度在

不同 pH 下变化很大，就使得控制产品的 pH 非常重要。

所有的可溶性颜料都包含反应基团，有一些可能与处方中的主药不相容。阴离子颜料还会同含有多价阳离子（如钙、镁或铝）的化合物反应并生成沉淀。某些染料（如 FD&C blue #2 和 FD&C red #3），在水溶液中溶解性很差，因而从不用于水性液体产品的着色。

当在液体产品处方中使用染料时，应使用能给出所需颜色的最低浓度的染料，因为高浓度会造成呆板的颜色。大多数液体产品含有的染料浓度小于 0.001%。实际浓度取决于产品看起来的正常效果和所需的色深。

因为染料通常以小浓度出现，在同整体处方混合前要预先溶解染料。这可以确保在添加过程之前所有的染料都能溶解。如果染料直接加入混合罐，就很难确定是否有少量未溶解的染料存在，会给后面的混合操作带来问题。

色素或染料可以用来染色不透明液体如混悬剂、乳剂或印刷墨水。在水性系统中，色素提高了光稳定性，并不易受 pH 和赋形剂相容性的影响，这可以延长储存期。在非水性系统中，由于溶解度的限制使用色素是必需的。液体介质会导致某些有机色素渗散。渗散的程度由 pH 和溶剂组成决定。

如果选择色素作为着色剂，有必要在加入到最终产品前将其预先分散。市场上可以买到不同种类溶剂的浓缩分散液。

4. 软膏剂和油膏剂

染料和色素都可以用于着色软膏剂和油膏剂，这取决于载体。优先选择色素是因为它们不易在表面迁移。为了在系统中加入色素，有必要将色素与产品在滚筒或软膏磨中混合。

着色剂的性质与应用

前面已经讨论了不同药剂产品的着色方法和不同形式的可用着色剂，下面部分有助于设计产品处方。

1. 可溶性染料

如果选择的着色剂是一种可溶性染料，许多是以粉末、颗粒或液体形式使用的。液体形式处理方便，无粉尘，可随时使用。然而，它可能是最贵的着色剂形式，并且存在光稳定性和微生物稳定性的问题。粉末形式最便宜，但是会有潜在的粉尘问题继而导致车间污染。建议使用颗粒产品，因为粉尘问题减少了，尽管有时颗粒比粉末溶解慢，这取决于颜料。

表 7～表 9 列出了一些染料的溶解性和稳定性参数。

表 7 一些 FD&C 着色剂的近似溶解度（25℃每 100mL 溶剂中溶解的克数）[1)]

颜料	蒸馏水	甘油	丙二醇	95%乙醇	50%乙醇
FD&C blue #1	18	20	20	1.5	20
FD&C blue #2	1.5	1	0.1	痕量	0.2
FD&C green #3	17	15	15	0.2	7
FD&C red #3	12	22	22	2	4
FD&C red #40	20	3	1.5	痕量	1
FD&C yellow #5	15	18	8	痕量	4
FD&C yellow #6	18	15	2	痕量	2

1）FD&C 着色剂商品溶解性不同，很大程度取决于盐、纯颜料、含水量和辅助颜料使用的量。

表 8 FD&C 颜料稳定性数据

颜料	热	光	酸	碱	氧化剂	还原剂
FD&C blue #1	好	中等	很好	中等	中等	差
FD&C blue #2	好	很差	中等	差	差	好
FD&C green #3	好	一般	好	差	差	很差
FD&C red #3	好	差	不溶	好	一般	很差
FD&C red #40	好	中等	好	中等	一般	一般
FD&C yellow #5	好	好	好	中等	一般	一般
FD&C yellow #6	好	中等	好	中等	一般	一般

表 9 某些 D&C 颜料的溶解性和稳定性[1)]

	溶解性			稳定性				
	水	甘油	乙醇	光	酸	碱	还原剂	氧化剂
D&C blue #4	S	S	S	F	G	F	P	P
D&C blue #9	I	I	I	G	G	G	P	G
D&C green #5	S	S	SS	G	G	G	P	F
D&C green #6	I	I	SS	G	G	G	P	F
D&C green #8	S	SS	SS	P		G	F	F
D&C orange #4	S	S	SS	G	G	P	F	F
D&C orange #5	I	SS	S	P	F	G	F	F
D&C orange #10	I	SS	S	P	F	G	F	F
D&C orange #11	S	S	SS	P	F	G	F	F
D&C red #6	S	S	I	G	F	F	P	F
D&C red #7	I	I	I	G	F	G	P	F
D&C red #17	I	SS	SS	F	F	G	P	F
D&C red #21	I	I	SS	P	F	G	F	F
D&C red #22	S	S	SS	P	P	G	F	F
D&C red #27	I	I	SS	P	F	G	F	F
D&C red #28	S	S	S	F	F	G	F	F
D&C red #30	I	I	I	G	G	G	P	G
D&C red #31	S	SS	SS	G	F	G	P	F
D&C red #33	S	S	SS	G	F	G	P	F
D&C red #34	I	I	I	F	F	F	P	F
D&C red #36	I	I	I	G	F	F	P	F
D&C red #39	I	S	S	P	P	G	F	F
D&C violet #2	I	I	SS	F	G	G	P	P
Ext. D&C violet #2	S	S	SS	G	G	G	P	F
D&C yellow #7	I	SS	SS	P	G	G	F	F
Ext. D&C yellow #7	S	S	SS	F	G	G	F	F
D&C yellow #8	S	S	S	F	F	G	F	F
D&C yellow #10	S	S	SS	F	G	F	G	P
D&C yellow #11	I	SS	S	P	G	P	G	P

1) I. 不溶性；SS. 微溶；F. 一般；G. 好；P. 差。

2. 色淀色素

FD&C 色淀染色强度可达 3%～60%。每个颜料的实际色度、色调和染色强度不同。每个生产商生产出的产品也有微小的差异。

一些性质使色淀更适用于制剂着色，如相对遮光性、对热和光的稳定性，并在直接压制产品（如片剂）染色时可以在干燥情况下使用。它们是染色脂肪和油类的唯一着色剂，因为没有油溶性着色剂可用于这些处方。

参考文献中列出了一些色淀的物理性质（包括粒径分布、含水量、吸油量、堆密度、密度和 pH 稳定性）。这些性质可能有或没有意义，依据使用者的用途而定。

粒径分布影响某些特殊色素的色彩性质。粒径分布较好有助于色素在给定系统中分散。

如果所用色淀为铝色淀，氧化铝底物含有结合水，并且色淀本身就含有 12%～25%的总结合水。高温处理过程会损失一些结合水，然而对于多数药剂学应用来说并不是什么问题。

吸油量是指每一个颗粒都被油包裹时所需的油量，由色素的表面积和颗粒的孔隙度决定。这一特性更多应用于涂料工业，而不是药剂着色，这可能是因为在生产软膏剂和油膏剂时有一些极限值。

堆密度是指单位体积疏松干色素的质量，包括空隙。有时也叫做表观密度。堆密度因不同的生产商而不同，这取决于具体的研磨过程。

密度是指单位体积色素相对于标准（通常是水）的质量。这一性质很重要，因为它有时影响分散稳定性。色素如果比分散的溶剂重，就会易于沉降。

大多数铝色淀 pH 范围为 4.0～8.0。在这个范围之外，色素会同底物分离，色淀溶解。其他色淀可能在这一范围外仍然稳定。色淀的色度也可能因 pH 而变化。

表 10 给出了大多数 FD&C 色淀的典型物理性质。表 11 列出了某些色淀色素的相对光稳定性信息，这些值可因色素分散的环境而变化。这一数据显示了色素在羟丙甲基纤维素（HPMC）膜系统中相对于另一色素的衰退值。这一信息可作为一般的原则。然而当评估储存期和包装考虑

因素时，必须评价色素在特定剂型中的真正光稳定性。

表 10 FD&C 铝色淀：典型的物理数据

平均粒径	5.0～10.0μm
含水量	12%～25%
吸油量	40～45[1)]
堆密度	15～20lb/(cu·ft)
密度	1.7～2.0g/cm³
pH 稳定范围	4.0～8.0

1) ASTM 方法 D281-31，以每 100g 色素吸附油的克数表示。

表 11 一些 FD&C 和其他色淀的褪色特性[1)]

色素	等级
D&C red #30，30%AL	0.5
D&C red #7，50%toner	0.5
FD&C blue #2，34%AL	1
FD&C yellow #5，38%AL	1.5
FD&C yellow #5，15%AL	1.5
FD&C blue #2，12%AL	1.5
喹啉黄，23%AL	2
FD&C red #40，40%AL	3
淡红，25%AL	4.5
FD&C red #40，15%AL	5
D&C yellow #10，17%AL	5
FD&C yellow #6，40%AL	5.5
FD&C blue #1，30%AL	6
FD&C yellow #6，15%AL	7
丽春红 4R，25%AL	7
FD&C red #3，40%AL	7.5
FD&C blue #1，12%AL	7.5
FD&C red #3，15%AL	8.5
专利蓝 V，25%AL	9

1) 色素的羟丙甲基纤维素薄膜在褪色计内暴露 3h、6h 和 12h。着色剂分解的速度由着色强度方法计算，结果在 0～10 的范围内，数值大说明更易于褪色。AL—铝色淀。

总结

研制全球范围使用的药品，选择、使用着色剂非常复杂和费时。由于世界范围着色剂规则的差异和根据不同的剂型对不同着色剂性能的需要，必须考虑很多的因素。因此有必要在最后选定着色剂之前咨询专家，以避免日后研制和注册过程中出现的问题。

参考文献

1. Newsome, R. L. Food Colors—A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety and Nutrition. Food Technol. 1986, 49—56.
2. Catalog of Food Colors; ILSI Color Committee of the International Life Sciences Institute; Washington, DC, 1983; 1—3.
3. Food and Drug Administration. Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives Used in Foods. Red Book 1982.
4. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Specification for the Identity and Purity and Toxicological Evaluation of Food Colors. WHO Food Add. 1966, 66 (25), FAO Nutr. Mtgs. Rept. Ser. No. 38B.
5. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological Evaluation of Some Food Colors, Emulsifiers, Stabilizers, Anti-Caking Agents and Certain Other Substances. WHO Food Add. 1969, 70 (36), FAO Nutr. Mtgs. Rept. Ser. No. 46A.
6. Evaluation of Certain Food Additives. 21st Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1978, WHO Tech. Rep. Ser. 617.
7. Code of Federal Regulations. 2000, Title 21, Part 201.20.
8. Official Journal of the European Communities 22.9.95, L226.
9. Code of Federal Regulations 2000, Title 21, Part 74.1710.
10. Code of Federal Regulations 2000, Title 21, Part 70.3f.
11. Code of Federal Regulations 2000, Title 21, Parts 74, 81, 82.
12. Marmion, D. M. Handbook of U. S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics, 2nd Ed.; Wiley: New York, 1984.
13. Official Journal of the European Communities 1962, 5, 82—85.
14. Official Journal of the European Communities 1979, 22 (L33), 1—4.
15. Official Journal of the European Communities 10.9.94, L237.
16. Food and Drug Regulations—Coloring Agents, Part C. 01.040.2, Canadian Department of Health, August 30, 1995.
17. Ministerial Ordinance to Establish Tar Colors Which Can Be Used in Pharmaceuticals, No. 30, Japan Ministry of Health, August 31, 1966.
18. Japanese Pharmaceutical Excipients Directory, The Japan Pharmaceutical Excipients Council; Yakuji Nippo Ltd: Tokyo, 2000.
19. Nicholson, A. E.; Tucker, S. J. Coloring Solid Pharmaceutical Forms and Compositions. US Patent 2, 925, 365 February 16, 1960.
20. Porter, S. C. Effect of Additives on Properties of an Aqueous Film Coating. Pharm. Technol. 1980, 4 (3), 66.
21. Blumenthal, W. B. A Review of the Literature on Color Lakes. Ann. Dyestuff Rep. 1946, 35 (23), 529.
22. Food Colors. Food and Nutrition Board; National Academy of Sciences: Washington, DC, 1971.

23. Francis, F. J. Handbook of Food Colorant Patents; Food & Nutrition Press, Inc.: Westport Connecticut, 1986.
24. Henkel, J. From Shampoo to Cereal—Seeing to the Safety of Color Additives, U. S. Food and Drug Administration, FDA Website http: //vm. cfsan. fda. gov/~dms/cos-221. html, FDA Consumer, December 1993.
25. Lachman, L.; Lieberman, H.; Kanig, J. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3rd Ed.; Lea & Febiger: Philadelphia, 1986.
26. Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds. Pharmaceutical Dosage Forms; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982; 1—3.
27. From Color Facts—FDA/IFIC Brochure, U. S. Food and Drug Administration, FDA Website http: //vm. cfsan. fda. gov/~lrd/colorfac. html, (accessed January 1993).
28. Walford, J., Ed. Developments in Food Colours; Elsevier: London and New York, 1980; 1 and 2.

（岳 鹏 译）

Y

液雾剂

Michael E. Placke
Jeffrey Ding
William C. Zimlich, Jr.
Battelle Pulmonary Therapeutics, Inc., Columbus, Ohio, U. S. A.

引言

治疗各种不同呼吸道疾病的患者时通过吸入途径输送治疗用气溶胶是常用的方法。吸入给药在药物的使用方面具有许多优点，因为药物被直接释放至作用部位，与口服或非胃肠道途径给药（注射）相比，减少了每一次治疗所需的治疗剂量，其结果是吸入途径给药减少了由于全身吸收带来的副作用，以及增加了沉积在目标组织的药物量。在美国市场，支气管扩张药、抗胆碱能药、消炎药以及皮质类固醇药物常通过吸入剂用于呼吸道疾病的治疗，如哮喘和慢性阻塞性肺病（COPD）。另外一些药物，如抗生素、抗真菌以及抗病毒化合物，也可通过吸入剂用于局部给药，或正在发展这些剂型。更进一步，吸入剂正向全身性疾病的治疗发展，产品包括小分子和大分子药物。多肽和蛋白质的肺部给药是吸入给药中发展极快的领域，首先开发的为吸入胰岛素治疗糖尿病。

可以简单地定义气溶胶为悬浮在气体（如空气）中的一些固体或液体颗粒，气溶胶是气体和悬浮在气体中的微粒两相组成的系统[1]。气溶胶科学已经在各种不同的领域，特别是环境科学中进行了几十年的研究，用于了解空气污染对健康的影响。这些研究不仅使我们理解了气溶胶颗粒的动力学特性及其对人类健康的影响，而且还为医药工业利用吸入气溶胶达到治疗目的打下了基础。药学气溶胶将治疗用活性药物输送到呼吸道以达到局部的或全身的治疗目的，这种剂型既可通过口腔也可通过鼻腔吸入。吸入治疗的迅速发展主要得益于下列三个因数的影响：

（1）气溶胶发生技术的进步，使人们能更有效地将药物输送至呼吸道，并控制其释药；

（2）生物技术的进步，为人们提供了大量新的、其他给药途径难以起作用的治疗物质；

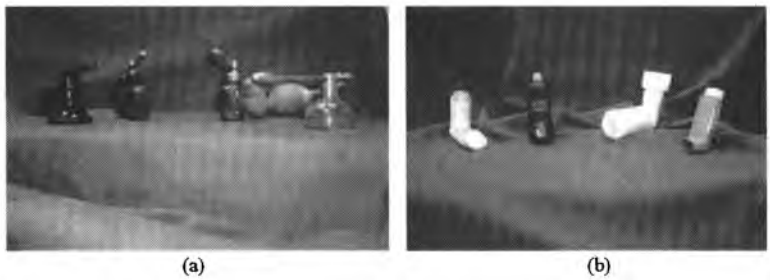
（3）对呼吸道病理生理学更好的理解，使得医师和科学家可以选择多种多样的最佳治疗方案。

治疗药物的肺部给药接受了以上三方面的挑战，尤其是在第一、二方面。现在我们能发明新的治疗剂，但是我们必须确信我们能以最有效的剂量和剂型、可重现地将药物输送至需要的部位[2]。

过去 10 年来已逐渐地发现了使用呼吸道途径给药的益处[3]。人类的呼吸系统具有极大的表面积，有时相当于一个网球场的大小（约 100m²），使得将药物吸收入血的肺部给药成为一个极具吸引力的领域。对于多肽和蛋白质类药物的全身作用，通过吸入的给药方法具有许多优点，这些药物经胃肠道给药时将被降解，作为注射剂给药时需要重复注射[4]。

不仅如此，吸入气溶胶也能在呼吸道提供较高的药物浓度。由于增强了局部的药物沉积，通过气溶胶吸入治疗呼吸道疾病是十分有益的，同时减少了副作用。结果通过吸入剂，较小的剂量即能获得肺部较好的治疗水平，从而避免了全身性高水平的药物浓度。因此，吸入药物气溶胶已经为控制哮喘、呼吸窘迫综合征（RDS）、慢性阻塞性肺疾病（COPD）、囊胞纤维化和其他的呼吸道疾病标准的临床治疗方案[5]。尽管现在已有很多产品用于新的吸入治疗，成功发展肺部给药产品仍然是一个具有挑战性的任务，因为本质上其多学科性是问题和困难之所在，也许这可以解释为什么该领域没有得到更快的发展[6]。

使用雾化进行呼吸道给药可以追溯到 20 世纪的早期，也就是空气喷雾器作为药物输出装置使用的时候。图 1（a）为起初使用的喷雾器的一些例子，其中最简单地为挤压附在装置上的球管。图 1（b）为较现代的一些例子，如 pMDI等。



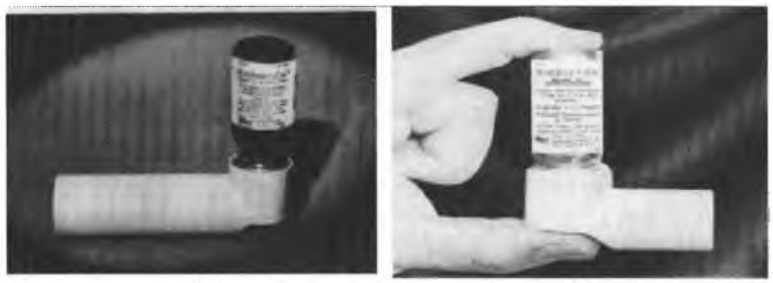
(a) (b)

图 1 药物释放装置。(a) 挤压球管喷雾器（Bruce McVeety 供图）；(b) pMDI

挤压球管喷雾器的雾化原理与传统的喷雾器是相同的，液体被强行通过一小口。从早期的挤压球管喷雾器中产生的气溶胶的粒度通常是较大的（由于没有能力准确地以机器制造小孔），因此其产生的气雾不适合人的吸入。但是，制造经由吸入途径给药的产品，这样的理念具有重要的里程碑式的意义，为发展更好的肺部给药技术打下了基础。

现代压力定量气雾剂（pMDI）是在 1955 年和 1956 年之间发展起来的，而且，pMDI 是在以前多年的研究工作的基础上发展起来的[7]。在 20 世纪 30～40 年代，液化抛射剂（氯代氟碳化合物或氟利昂抛射剂）的发现，如 CFC12、CFC114、CFC11 和 CFC22，是实现手持式吸入器的一个主要阶段。然而，直到定量阀装置的出现并申请了专利的 1956 年，才发明了第一个 pMDI[7]。

由 Riker 实验室（现在的 3M 制药公司）发明的第一个 pMDI，在最近得到了详细的描述，是于 1956 年 3 月由美国 FDA 批准上市的[8]。同时推出的产品有 Medihaler-Ept™ 和 Medihaler-Iso™，图 2 展示了这些吸入器的初期说明书的样本。1957 年对 Medihaler-Iso 做了经适当的改变以适应混悬液处方的需要，这对难溶性药物的处方特别有用，如稍后用于气喘治疗的许多类固醇药物。pMDI 的成功发明奠定了经由呼吸道给药的发展基础，而且保持了其后 40 年的首选小容积喷雾器的历史。



(a) (b)

图 2 定量吸入器。(a) Medihaler-Ept™；(b) Medihaler-Iso™ (Charles Thiel 供图)

任何药物通过人呼吸道的成功给药，需要药物以适当的形式产生和释药，适用于人的呼吸。人类的呼吸道具有非常复杂的结构，以满足以下两个目的：①对新陈代谢有重要作用的气体交换（O_2 和 CO_2）；②阻止外来粒子进入肺部。药物气溶胶的产生以及其在人肺部的沉积依赖于许多因素，如气溶胶颗粒的物理化学性质、释药装置的作用机理和特性质量、患者的呼吸模式以及人肺的形态等，这些因素是相当重要的。

• 气溶胶特性如颗粒大小分布、气雾速度和吸湿性等，影响气溶胶在人肺部的沉积。气溶胶颗粒大小分布，包括质量中间空气动力学直径（MMAD）和几何标准差（GSD），是控制微滴或颗粒沉积在肺部的最重要的变量之一[3]。

• 装置特性在将药物释放至肺部中起到十分重要的作用。气溶胶产生的机理影响颗粒大小分布、气溶胶释放动力学和从释药装置释放药物的重现性。不同的患者群中，这些因素对于控制药物气溶胶的常量释药是关键性因素。

• 即使对于相同特性的气溶胶（如 MMAD 和 GSD），患者的呼吸模式或练习也能显著地影响气溶胶在人肺部的沉积位置。呼吸道中气溶胶的沉积机理主要由沉降、惯性碰撞和扩散所组成。药学气溶胶主要由沉降和惯性碰撞而沉积。因此，在高速（既可由装置产生高速，也可由患者吸气而产生高速）状态下释放的气溶胶主要由惯性碰撞而沉积，极大地提高了气道沉积。相反的，降低吸入剂气溶胶的速度有利于改善其在肺部周边的沉积；再者，吸气后暂停（如屏住不呼气）将增加到达深肺部颗粒的沉积，使得颗粒更完全着落。

• 上呼吸道和下呼吸道的形态也将影响药物的肺部沉积。不同患者的解剖条件（如气道大小、疾病状态和阻塞程度等）不同，因此，患者间药物沉积的位置也将是不定的。

现在已上市的有效的给药吸入剂装置由 MDI、DPI 和喷雾器所组成。这些装置的优缺点已经在文献中被广泛地综述。本章将重点介绍从液态系统发生气溶胶的吸入剂，包括小容积吸入器、大体积家用或临床用的喷雾器。

以粉状形式产生的气溶胶将在另外篇章中介绍。此处将详细介绍各种不同的释药装置，包括那些已经有效上市的和正在发展的，所以读者将对用于肺部给药的装置的优缺点有较好的理解。重点将介绍正在发展的新的肺部给药装置技术，以及其潜在的释放药物的应用，不仅用于局部作用，也用于药物的全身性吸收以使其在肺部之外起作用。过去 10 年来，在气溶胶发生技术的刺激下，以及新涌现的生物药物的要求下，吸入剂释药领域产生了许多发明。

市场上已有的肺部给药技术

在治疗局部或全身疾病中，充分认识吸入剂装置的有效性能（或有关缺陷）对于了解释放至肺部的药物如何起作用是相当重要的。为使药物通过吸入剂起效，产生的气溶胶必须有适当的大小，才能沉积在目标部位。患者需要吸入适当的药物组成，以及药物必须有足够的量沉积在作用部位，才可能有效地被吸收或分布。市场上有效的肺部给药装置已被广泛地用于呼吸道疾病的治疗，如哮喘和慢性阻塞性肺病。由于这些药物的治疗指数较宽，这种给药

Y

方式有效。综述目前装置技术的优缺点将十分有用，可以让患者较好地认识到如何使用装置，以及需要怎样改进装置来适应吸入剂输送各种不同的药物。本章局限于讨论产生液体（如溶液、乳浊液和混悬液）药物气溶胶的装置。

药物输出装置的分类有多种。本章讨论的吸入剂药物输出装置的分类依据产生气溶胶的操作原理或基础机理进行。

1. 压力驱动装置

1.1 空气压力喷雾器

在临床上和家中使用空气压力喷雾器治疗呼吸道疾病已有多年。空气压力喷雾器利用来自一个空气源的压缩气体（既可以来自医院空气管道，也可来自手提式的压缩机），挤压液体通过一个小孔（如喷雾口），使得液态药物溶液转变为小液滴。液体通过内外力作用聚集在一起，随着其表面张力的分裂而发生雾化。在缺少这种分裂力的情况下，液体的表面张力将使液体形成具有最小表面能的球状[9]。雾化产生的微滴含有许多大的液滴，将进一步分裂成小颗粒。液滴的粒度大小不仅依赖于雾化期间所使用的动能，而且取决定于喷雾口的孔径以及液体处方的物理性质。

驱动空气压力喷雾器的空气压力一般为 20～40psi。压缩空气通过一个狭窄口时加速，将液体喷射成片状、喷射状、膜状或细流，加速这些带状物至足够的速度，撞击挡板或喷雾器壁，起源于喷雾器中的液体含有水蒸气，使得向外空气变得饱和，从而产生两个重要的结果：

- 喷雾器冷却，达到一个平衡温度，约低于室温 10℃，因此患者吸入相对较冷的气溶胶云；
- 当载气蒸发时，水的蒸发引起溶质浓度的增加[10]。

液滴形成：虽然对雾化机理的理解已通过数学模型得到了认可，但通过超声而形成雾滴的一般理论仍然没有完全发展。采用严谨的数学描述来理解液滴的形成，需要如下两方面的知识：在液滴表面上的空气动力学压力，以及该压力与作用于液滴的内力之间的相互关系。因此，在进一步讨论各种不同的参数对雾化特性的影响之前，很有必要简单地介绍一下单个液滴在气动力的作用之下破裂的各种不同方法。在初级雾化过程中使用压缩空气源一经产生液滴，此液滴是不稳定的，将进一步的裂解成更小的颗粒，称为“二次雾化”，在外源的气动力作用下，同液体处方的内力如（表面张力）和黏度一起形成单个液滴，意味着形成了液滴。Klusener 使用下列公式描述了这些力之间的关系[11]：

$$P_1 = P_a + P_\sigma \tag{1}$$

式中：P_1 为作用于液滴表面任何点的内压力；P_a 为来自压缩气源的外部空气动力学压力；P_σ 为由表面张力所引起的压力。从公式中可以观察到，只要根据表面张力所引起的压力的变化调整空气压力 P_a 使达到平衡，则液滴能保持其稳定，因此内压力保持为常数。当空气动力学压力大于由表面张力引起的压力时，外部压力将会使液滴变形，以减少表面张力引起的压力，保持内压力为常数。这一变形将会继续直至液滴崩裂为更小的颗粒[9]。

对于低黏性的处方，如水相处方，黏力与表面张力相比较小。在如此相对条件下，根据式（2）可获得无量纲参数[8]。对于给定的低黏性液体，液滴崩裂的重要条件为气动力与表面张力相等，表示为

$$C_D \frac{\pi d^2}{4} 0.5\rho V^2 = \pi d\sigma \tag{2}$$

式中：C_D 为拉力系数；d 为液滴半径；ρ 和 σ 分别为液滴的相对密度和表面张力。从式（2）能计算其最大稳定的液滴直径：

$$d_{max} = \frac{8\sigma}{C_D\rho V^2} \tag{3}$$

而液滴破裂的临界速度为

$$V_{crit} = \left(\frac{8\sigma}{C_D\rho d}\right)^{0.5} \tag{4}$$

式（4）也可用称为韦伯数的无量纲参数来表示：

$$We_{crit} = \left(\frac{\rho V^2 d}{\sigma}\right)_{crit} = \frac{8}{C_D} \tag{5}$$

这是外部气动力与表面张力之间的比，使用上述的公式，可以估算在颗粒临界速度时的最大粒径。然而，应该注意到，估计的直径仅来自初级的雾化过程；第二，雾化通常会减少和夸大粒度分布；再者，初级雾化后，当一个液滴立刻撞击到挡板时，液滴直径极快地降低。喷雾器系统使用挡板有助于控制液粒的粒度分布，因此产生的气溶胶可获得所希望的粒度大小范围，通常其平均值为小于 10μm，最好为小于 5μm，这样，可有效地在人肺部沉积。

处方物理性质的影响：黏性和表面张力等处方的物理性质是影响雾化过程的重要参数。一般认为表面张力是减少产生表面积增大的决定性因素，而液体的黏度是阻止产生的液滴形状发生改变的主要因素[12]。研究表明[13]，对于低黏性液体，产生的液滴大小与液体黏度成正比，而相对密度对液滴大小的影响较小。黏度对液滴大小的影响较为复杂。Searls 和 Snyder 的研究表明[14]，高黏性液体不但雾化时间增大（雾化产量降低），而且减小了平均粒度。但 Hinds 等[15]报道，使用 Laskin 气溶胶发生器在 20psi 下操作，液体黏度从 17 cP 到 100 cP 以上时，液滴大小几乎不变。

McCallion 等[16]对不同理化性质的液体对压缩空气喷雾器雾化特性的影响进行了更广泛的研究。使用三种不同的喷雾器，即德国 Pari-Werk GmbH 公司的 Pari LC、英国 Medic Aid 公司的 Sidestream 和英国 Intersurgical Complete Respiratory Care 公司的 Cirrus，对不同的黏性和表面张力的材料进行雾化，但只报道了使用 Pari LC 喷雾器的数据。气溶胶的粒度分布使用激光衍射法测定，此法已经被 Clark 等[17]证明是耐用的和可靠的技术，且与体内沉积数据有良好的相关性。表 1 列出了使用 Pari LC 喷射喷雾器喷雾不同处方而得到的实验数据，分别使用两种雾化流速（6L/min 和 8L/min）得到质量中间粒径。作者得出结论为：黏性越

大的流体产生的微滴越小。在一定的表面张力范围内，约70dyn/cm（70.0～72.9dyn/cm），当黏度从1.0 cP增加到约6.0 cP时，微滴的质量中间粒径从3.2μm减少到2.5μm。当表面张力约为20dyn/cm时，同样的情况发生：黏度增加，粒度减少。表面张力对粒度分布的影响并不清楚。然而作者指出，当流体系统被单独分析时，表面张力和质量中间粒径间似乎存在关联。在甘油和丙二醇溶液中，表面张力直接与微滴大小成比例，但在硅胶流中，现象正好相反。另外两个测试的喷雾器也报告了一个趋势，但是没有报道数据[18,19]。

表1 Pari LC喷雾器雾化的液体的平均质量粒径中位值[16]

液体	黏度/cP	表面张力/(dyn/cm)	质量粒径中位值/μm	
			6L/min	8L/min
水	1.00	72.8	3.6	3.1
乙醇	1.19	24.1	3.0	2.5
10%甘油	1.31	72.9	3.1	2.9
25%甘油	2.09	72.2	2.6	2.4
10%甘油	6.03	70.0	2.5	2.0
10%丙二醇	1.50	62.0	1.9	1.6
30%丙二醇	3.00	52.0	1.6	1.5
50%丙二醇	6.50	45.0	1.3	1.2
硅油200/0.65cs	0.49	15.9	3.3	2.9
硅油200/1cs	0.82	7.4	2.4	2.0
硅油200/5cs	4.60	19.7	1.6	1.3
硅油200/10cs	9.40	20.1	1.7	1.7
硅油200/20cs	19.00	20.6	1.7	1.5
硅油200/50cs	48.00	20.8	1.2	1.1
硅油200/100cs	97.00	20.9	1.4	1.4

药物浓度效应：由于雾化过程中存在大量的空气，任何溶剂（如水）都有连续的蒸发损失。在一些研究中[20~23]已经描述了这一现象。理论上，储库中药物浓度将会连续增大直到其溶质浓度到达药物溶解度限度，此时，可能发生沉淀现象。事实上，用于喷雾器给药的许多药物（如支气管扩张药）是强亲水性的，而且喷雾器内药物溶液的处方[3]一般在溶解度限度下面很多，因此沉淀现象很少发生。然而，这导致了颗粒大小分布的改变及不同的沉积模式，以及单位时间给出的单位剂量的改变。总体说，对于很多药品，这导致了沉积剂量的变化和不可预测。定量预测溶液浓度的改变大小相当困难，其主要依赖于雾化液的处方、雾化条件以及喷雾器的类型。最近Niven[12]根据早期Mercer等[21]描述雾化器中药物浓度与雾化时间的关系导出了一个数学公式，由Mercer等[21]得到的药物浓度表示为

$$C(t) = C_0\left[\frac{V_0}{V_0-(W+S)Ft}\right]^{W+S} \tag{6}$$

式中：W 和 S 分别为每升空气溶液输出量和溶剂输出量（mL/L），如图3所示；V_0 为喷雾器中雾化液起始装量；F 为雾化流速。有人导出一个使用较方便的公式[12]，以药物输出质量来表示，这样对于预测不同操作条件的雾化器中药物输出量更为实用：

$$M_{out} = M_0\left[1-\left(\frac{V^{(W/W+S)}}{V_0}\right)\right] \tag{7}$$

式中：M_0 为溶液中药物起始量；V 为时间 t 时的溶液容积，表示为

$$V = V_0-(W+S)Ft \tag{8}$$

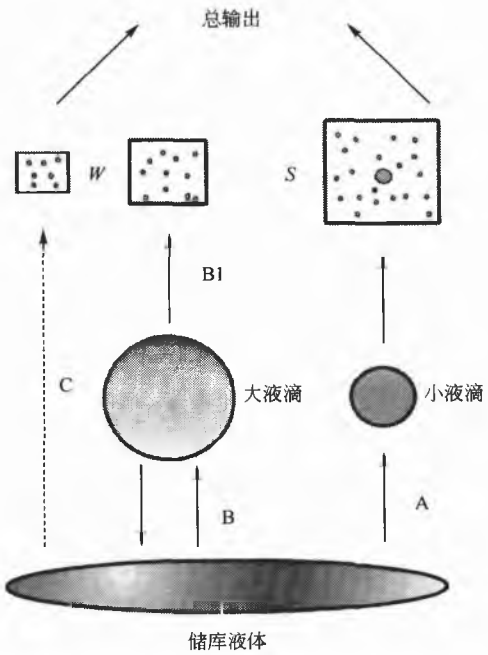


图3 喷雾器输出示意图[12]。足够小的液滴由气流带出（A途径），大液滴要么回到喷雾器储库（B途径），要么由气流带出（B_1 途径），部分溶质会挥发（C途径）

Y

Newman 等[24]使用四种不同的喷射喷雾器评估了药物浓度的变化，药物溶液为用于治疗囊性纤维化患者的庆大霉素溶液。使用的喷雾器的类型分别为 Bird micronebulizer、DeVilbiss 646、Bard Inspiron mini-neb 和 Medic-Aid Upmist。所有四种雾化器均以四种不同的通气量率进行操作：6L/min、8L/min、10L/min 和 12L/min。雾化时间定为在能看见气溶胶释放的 30 秒后。使用渗透压计测定残留在喷雾器内的药物溶液的浓度。两种装量的起始药物浓度均为 40mg/mL。表 2 为在不同雾化流速下庆大霉素溶液的最终浓度。

表 2 喷雾器储库中的最终药物浓度 （单位：mg/mL）

喷雾器类型	Nebulization flow rate			
	6L/min	8L/min	10L/min	12L/min
灌装溶液体积：2mL				
Bird	54.4	62.0	57.2	58.4
DeVilbiss	55.6	60.4	56.0	65.6
Inspirion	58.4	65.2	68.0	68.0
Upmist	64.4	58.0	58.0	58.0
灌装溶液体积：4mL				
Bird	59.2	65.6	58.0	64.0
DeVilbiss	78.4	77.2	71.6	75.2
Inspirion	71.2	69.2	74.0	74.8
Upmist	76.8	75.6	62.8	62.8

据发现，一般 2mL 装量容积的初始药物浓度与最终药物浓度的比为 1.35～1.70，而 4mL 装量容积的初始药物浓度与最终药物浓度的比为 1.45～1.96。四种不同的雾化流量间其比率无显著性差异，但是对 4mL 装量容积的比率显著性高于 2mL 装量容积的比率（$p<0.01$），表明大容积装量浓缩储液缸中药物溶液的时间较长。使用沙丁胺醇溶液观察到了相同的现象，雾化后药物浓度增加[25]。同时也发现随着溶液装量的增加，浓度比减少，这与表 2 中列出的结果不同。但是差异可能来源于不同的雾化源，文献 [25] 在实验中分别使用了干燥氧气和电动空气压缩机进行比较。

温度效应：大家知道由于使用了大量的压缩空气来产生气溶胶颗粒，所以喷雾器中的溶液在雾化期间冷却[20,21]。在初始雾化的几分钟内，喷雾器内溶液的温度由于溶剂的蒸发而降低几度（5～10℃），直到建立新的热平衡体系。由于压缩空气源的绝热膨胀导致的喷雾器中溶液的冷却，可能被热能吸收，此热能由液体的爆破和撞击释放[26]。雾化溶液的温度变化的大小取决于许多因素，如热容量、喷雾器材料的性质、周围环境的条件和压缩空气温度和湿度。图 4 显示溶液温度的变化对雾化时间的一个函数[20]。使用四种不同类型喷雾器在不同的空气压缩机下雾化氯化钠溶液，喷雾器内溶液温度最初为室温（约 23℃）。

作者指出，不同的喷雾器有不同的温度变化曲线，其取决于雾化时使用的压缩空气流速。溶液温度降低到一稳定值，T_s，在雾化流速 6.3～5.0mL/min 时低于室温 5～6℃，在雾化流速 8L/min 则低于室温 11～15℃。

气溶胶释药效率和粒度分布：雾化药品的释药效率和粒度分布是在气溶胶治疗中评价喷雾器特性的两个最重要的参数。喷雾器的气溶胶输出效率主要依赖于喷雾器类型、

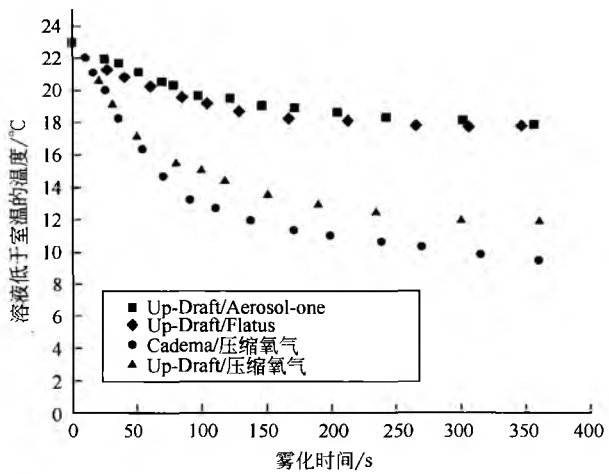


图 4 雾化溶液低于室温（23℃）的温度与雾化时间的关系[20]

药物处方、置于喷雾器内的溶液体积和使用的气压（即通过喷雾器的气流由此而来）。计算喷雾器输出效率最简单的方法是在喷雾前后称取喷雾器的质量，常用单位时间输出的溶液质量来表示（即 mg/min）；但是这种计算方法受制于至少两个可能的误差来源：①当它用来换算每单位时间容积输出量为每单位时间质量输出量时，忽略了溶液密度的改变；②如前讨论的，忽略在溶液浓度方面的改变。喷雾器的输出效率能简单地表达为

$$E=\frac{M_p-M_d}{M_p} \tag{9}$$

式中：E 为喷雾器输出效率；M_p 为雾化前喷雾器中的药物量；M_d 为雾化后残留在喷雾器内的药物量。当看不见气溶胶或“溅散”的存在，和当在喷雾器储液池中的溶液容积极低而无法供给喷雾器的喷雾口以连续的液体，从而引起

雾化量明显减少时，喷雾器才不再被使用。然而，这些都是粗略的计算，且没有提供患者吸入雾化药物量的指示。

输出效率，或喷雾器输出量，可用不同的方法表示，这在文献中已被广泛地采用。有时表示为容积输出，有时表示质量输出。然而，使用在喷嘴或其附近计算从喷雾器中释出药物质量来表示喷雾器输出量更为实际，因为系统中此处雾化药物量是衡量患者有效吸入药物多少量的最好方法。

喷雾器输出量主要取决于三个变量：喷雾器的类型、雾化时的操作条件，以及雾化溶液。溶液相对密度和黏度在喷雾器输出量中扮演较小的角色，因为大多数为水溶剂，但当雾化较高黏度溶液时，黏度就是一个重要的因素。对于给定溶液和喷雾器，操作压力是决定喷雾器输出量的主要因素。增大雾化压力通常增大喷雾器输出量。增大喷雾器输出量对临床有明显的好处：能减少雾化单个有效剂量必需的时间，这一点特别对治疗过程缺少耐心的年轻患者优势明显。如单位时间药物输出量增加，而治疗时间减少，导致产生更好的可接受性而改善了临床治疗结果[27]。图 5 说明了操作压力为药物输出量函数的关系[28]。

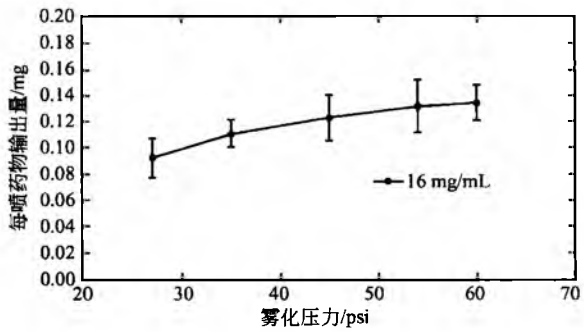


图 5 雾化压力与每喷药物输出量的关系[28]

使用 Pari LC Plus 喷射喷雾器（图 6）进行研究。操作喷雾器时使用一个特别地设计的电子单位来调节供给喷雾器压缩空气的压力。使用脉冲模式操作喷雾器，用于产生气溶胶的雾化时间为 3s，逐渐增大操作压力则药物输出量通常也增加。雾化操作压力在 27～45psi 范围内，这些增大有显著性（$p<0.05$）；当操作压力继续增加至 45～60psi 时，气溶胶药物输出量不再显著性地增加。



图 6 Pari LC Plus 喷射喷雾器结构图（Pari GmbH 公司供图）

Finlay 等[29]最近测试了 15 个市场上不同的喷射喷雾器喷雾的性能。研究中使用的药物是 2.5mL 单位剂量的 Ventolin®（含有 1mg/mL 的硫酸沙丁胺醇），相当于每个药物容器内的标示剂量为 2.5mg。表 3 为不同喷雾器的实验结果。

表 3 不同喷雾器的输出效果[29]

品名	供应商	流速/(L/min)	体外吸入量		
			吸入量/mg	标示量/%	方法[1)]
AirLife	Baxter, Valencia, CA	5.5	0.60±0.02	24.1±0.9	A
Disposible Sidestream	Medic-Aid, Pagham, U.K.	6.7	0.35±0.01	13.8±0.8	B
Sidestream	Medic-Aid, Pagham, U.K.	8.0	0.35±0.02	24.1±0.9	B
Ventstream	Medic-Aid, Pagham, U.K.	8.0	0.59±0.01	23.6±0.5	B
LCJet+ (ProNeb)	Pari, Richmond, VA	3.6	0.60±0.02	23.9±0.8	B
LCJet+ (Pro-Aid)	Pari, Richmond, VA	4.8	0.65±0.02	26.0±0.6	B
Pulmo-Neb	DeVilbiss, Somerset, PA	6.2	0.60±0.02	24.0±0.8	A
646	DeVilbiss, Somerset, PA	7.8	0.14±0.02	5.5±0.9	B
Raindrop	Puritan Bennet, Lenexa, ks	6.2	0.56±0.02	22.3±0.9	A
Salter	Salter Labs, Arvin, CA	6.1	0.65±0.02	25.9±0.6	B
T-Updraft	Hudson RCI, Temecula, CA	6.1	0.34±0.02	13.8±0.6	A
T-Updraft II	Hudson RCI, Temecula, CA	5.7	0.74±0.02	29.7±0.9	A
Up-Mist	Hospitak, Lindenhurst, NY	7.5	0.48±0.02	19.1±0.9	A
1405	Avion, Burlington, Ont.	6.2	0.47±0.02	18.5±0.9	A
1807	Avion, Burlington, Ont.	6.5	0.50±0.02	19.8±0.8	A

1）A 为常规的 T 喷嘴，B 为通气喷雾器。

Y

配备有T喷嘴的喷雾器有一无限制流量的室内空气通过喷雾器输出，以供给吸入通气量，有效地增大了药物输出量。在通风的喷雾器中，吸入的空气必须通过微滴产生的区域。因此，患者的呼吸模式影响这种装置产生的气溶胶特性。市场上的喷雾器的释药效率经试验为其喷雾器内装有的标示剂量的6%～30%。对于传统喷雾器，被吸入的剂量约为喷射喷雾器药物量的二分之一，因为假定吸入为整个呼吸周期的一半[29]。然而，这仅仅是释药剂量或吸入剂量的一个非常粗略的计算。

决定药物在呼吸道的沉积部位的参数是颗粒大小分布，其重要性已在文献中被广泛地讨论[1~7,10,12,20,24,27,30]。对于任何气雾化药物给定的吸入剂量，药物气溶胶的粒度分布、气溶胶速度、呼吸模式（呼吸的气流和体积）以及肺部形态学，决定了气溶胶在呼吸道中沉积的位置。一般认为产生的供吸入用的药物气溶胶的粒度，其直径应在1～5μm。因为气溶胶具有多分散性，质量中间空气动力学直径（MMAD）和几何学标准差（GSD）常用来描述气溶胶颗粒的分布。MMAD被定义为和质量有关的空气动力学直径的质量分布的中位值[1]。由15个不同的喷雾器产生的沙丁胺醇气溶胶的总平均粒径（MMD）和GSD[29]列于表4中，此处MMD= MMAD/相对密度$^{1/2}$。

表4 不同喷雾器产生的颗粒粒径分布[29]

品名	流速/(L/min)	颗粒粒径分布	
		MMD/μm	GSD
AirLife	5.5	5.8±1.0	1.7
Disposible Sidestream	6.7	4.2±0.2	1.5
Sidestream	8.0	4.3±0.4	1.5
Ventstream	8.0	4.7±0.4	1.5
LCJet＋(ProNeb)	3.6	6.2±0.4	1.7
LCJet＋(Pulmo-Aid)	4.8	6.2±0.3	1.7
Pulmo-Neb	6.2	5.6±0.2	1.6
646	7.8	6.8±0.6	1.7
Raindrop	6.2	5.0±0.4	1.6
Salter	6.1	6.1±0.9	1.7
T Updraft	6.1	5.3±0.5	1.7
T-Updraft II	5.7	5.9±0.3	1.7
Up-Mist	7.5	4.5±0.7	1.6
1405	6.2	5.0±0.6	1.6
1807	6.5	6.1±0.5	1.6

使用市场上常用的喷雾器产生的气溶胶粒度大小分布通常具有较高的变异性，且含有较大的平均粒径。这不仅导致较差的转移效率，而且导致在不同人群和同一人群内呼吸的沉积模式较差和变异性较高。

1.2 定量吸入器

pMDI已经广泛地被用于哮喘和COPD的治疗。这些装置比喷雾器和干粉吸入器更普及。20世纪50年代以来pMDI的普及率稳定上升，主要是由于其外观简洁小巧、本身含有动力来源，以及在支气管扩张药的使用上具有起效快速的特点。事实上pMDI使用简单，尽管其外观让人迷惑。许多患者对于如何正确使用pMDI，没能得到足够的训练，或发现有效地协调其呼吸与高速释放的气溶胶是几乎不可能的。在喷嘴处气溶胶的高喷射速度（通常为约30 m/s）是pMDI的最大的缺点。在如此高的喷射速度下，大部分药物气溶胶撞击在口腔或喉中而不能随呼吸流进入（即使当与气溶胶释放协调时）。典型地，60%～90%射出的药物将会沉积在喉区域中。这不但减少了希望到达作用位置的药物数量，而且口服吸收时常产生不必要的全身性的副作用。此时发展了储雾罐来缓和这个问题，储雾罐被放置在pMDI驱动器前来减小气溶胶的速度，并减少大粒径微滴在进入气道的数目。然而，这是以牺牲输出效率为前提的，进而减少了药物的吸入剂量。

典型的pMDI组成有：含有药物混悬或溶解于液化抛射剂的储药池、定量阀门和以一小管道连接定量阀门的驱动器。一直来抛射剂为具有高气压和通常生物惰性的氟氯碳化物（CFC）。pMDI使用抛射剂作为动力源输出一定剂量的活性药物。在其他位置，定量罐还与储液罐相连。压下药物罐使定量罐激活而使储液罐关闭，同时联结在转杆口和定量罐的阀门被打开。定量罐内的药剂很快地通过转杆阀门和喷雾口释放，使药剂雾化。当液体氟氯碳化物（CFC）蒸发，便产生足够的能量以有效地形成二相雾化，而不需要外部的动力来源[7]。

影响pMDI特性的首要因素是所使用的抛射剂、装置本身以及药物处方的物理性质，它们会部分地影响微滴的形成和药物均匀性。

抛射剂：用于pMDI的抛射剂由不同分子式的氟氯碳化物组成，吸入器中用于分散液体使成气溶胶的抛射剂常用的是CFC-11（CCl_3F）、CFC-12（CCl_2F_2）和CFC-114（$CClF_2$-$CClF_2$）[31,32]。这三种推进剂因为其独特性质，如低毒、优良的理化稳定性、理想气压以及与药物和表面活化剂通常较好的适应性，其在pMDI产品中已经使用了长达数十年之久。这些抛射剂具有合适的溶解度，能溶解常在pMDI系统中使用的表面活性剂，如油酸、山梨聚糖三油酸酯和大豆卵磷脂，且能溶解大多数的低量药物。pMDI处方中的表面活性剂的溶解性和药物的不溶性的结合对维持适当粒度的均匀混悬液是必要的。这三个抛射剂的物理性质列于表5中。

表5 常用于pMDI的抛射剂CFC的物理性质

抛射剂	相对分子质量	密度(21℃时)/(g/cm³)	蒸气压(20℃时)/psi	沸点（1atm)/℃	大气中生命/a
CFC-11	137.4	1.49	−1.8	23.8	75
CFC-12	120.9	1.33	67.6	−29.8	111
CFC-114	170.9	1.47	11.9	3.6	200～300

通过混合具有不同气压的抛射剂可调整 pMDI 中处方的气压，以达到一设定的值。抛射剂的另一个优点为具有狭窄的相对密度范围，可以被调整至与混悬液中药物颗粒的相对密度平衡[33]。

Morén[32]研究了气压对使用 pMDI 产生气溶胶的特性的影响。在这些研究中，九名健康志愿者以微小的间隔以与剂量释放协调，吸入了八个剂量，使用分光光度法测定驱动器、伸展管和口腔中沉积的药物量。结果发现气压增加导致气溶胶初速度增高、气溶胶的初始粒度较小以及抛射剂蒸发更快。在高于 502 kPa 的气压下，沉积在驱动器上的药物量增加，这可能是由于从喷雾嘴喷出的气溶胶的高速度和宽喷雾角的原因。

气溶胶处方：pMDI 的气溶胶处方是一个复杂的过程，不仅受如上讨论的抛射剂的影响，也受处方性质和装置设计的影响（如阀容积和喷雾口大小）。在喷雾嘴的出口处气溶胶微滴形成后，一个气溶胶烟雾开始扩张，而大颗粒沿着驱动器的轴移动。图 7 为市场购得的 pMDI 气溶胶形成的照片。

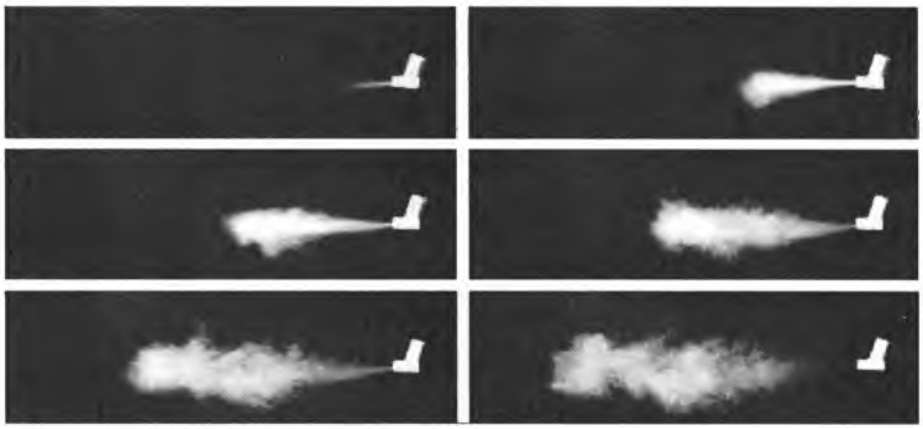


图 7　不同时间气溶胶烟雾的形成，每图的间隔时间为 30min

大多数大微滴从气溶胶烟雾中下沉，当一个患者使用吸入器时，这些微滴沉积在喷嘴或呼吸道的口腔-咽喉区域。当使用储雾罐时，许多大颗粒在储雾罐中被收集。剩余的气溶胶云连续蒸发，而且气溶胶的速度以从喷雾口 5cm 处的约 35 m/s 到 20cm 处时的约 10m/s，急剧地减小[34]。在药液雾化时，用于分散剂和阀门润滑剂的表面活化剂分子将影响抛射剂的蒸发速率[33]，气溶胶云的大小和形状显著地影响气溶胶在呼吸道的传送效率。

药物混悬液的物理稳定性：在 pMDI 处方中，非极性药物的混悬液的物理稳定性也依赖于很多参数，如抛射剂类型、药物的化学性质和处方中使用的表面活化剂。液体系统的混悬剂为不溶性固体颗粒分散在液体介质中；混悬剂可分为固体颗粒小于 1μm 的胶体系统和固体颗粒大于 1μm 的粗混悬液[35]。混悬液的物理稳定性也可依照处方中是否形成絮凝物或非絮凝物被分类。在非絮凝物系统中，固体药物颗粒慢慢地沉积和形成不能还原的凝聚物。结果颗粒在容器的底部形成明显的饼状。非絮凝物系统不可能通过简单的振摇而再分散，而且混悬液在块结之后不能再用。因此，对于 pMDI 系统，发展絮凝物处方是必需的。在絮凝物系统中，颗粒形成大的凝聚物，所以固体颗粒在振摇后可重新混悬。絮凝物系统的处方需要减少或中和药物周围 zeta 电位，这种消除颗粒之间的力的方法能使颗粒间彼此互相作用，形成大凝聚物而快速地沉积，同时也容易再分散[36]。在选择 pMDI 用的处方时，药物颗粒的相对密度通常比混悬液介质的相对密度低，因此，在一个未振摇的吸入器中药物逐渐地分为一层，飘浮在抛射剂和表面活化剂混合物上，振摇后立刻分散。药物在抛射剂中的溶解度对于 pMDI 处方的物理稳定性具有重要的作用，在非极性系统中，需要极低的药物溶解度，因此，pMDI 处方通常需要掺合进极性的盐，因为在抛射剂中的较高的药物溶解度能导致结晶的生长，从而常形成块状混悬物，减少细颗粒量[37]。

沉降比常用来估定混悬液的稳定性。Byron[37]报道了 1%荧光钠和不同量的表面活性剂（聚山梨糖三油酸酯）形成的混悬液在室温下放置 20 天后的沉降比，具有最低沉降比的混悬液处方有最好的絮凝系统，但所有的处方均易再分散：容器的完全一次翻转就可足够产生均匀的分散体系。在达到表观沉积平衡的翻转次数上没有明显的差别。测定处方的物理稳定依照：

- 在生产期间药物是否充分地分散；
- 重新分散是否容易，且量取的剂量是否有重现性；
- 表面活性剂浓度-药物结合使气溶胶具有最大的可呼吸比例[37]。

剂量和粒度分布的测定：每制动 pMDI 一次被重复释出的药物的量是常被报告的这些产品的特性参数之一。使用一些实验设置来描述 pMDI 的释药剂量，最普遍使用的实验条件之一是美国药典颁布的官方标准[38]，pMDI 装置与取样管一端连接，而另一端具有滤器夹持工具的则连接在一个真空泵上，通过取样管连续抽气以避免药物进入大气而损失。从 pMDI 释放的活性化合物通过滤器和取样管回收，从而测定装置的释药量。没有通用的定义用于不同的术语来表达由 pMDI 释放的剂量，而 pMDI 的标示规定

Y

各个国家不同[37]。在美国，释放剂量（标示量）定义为离开装置药物的量，不包括残留在驱动器和装置的阀门杆上的药物量，但在其他的国家，使用的定量剂量包括残留在驱动器上的药物量而不包括在阀门杆上的药物量[37]。释放剂量的描述常使用不同的名词，这常用作不同的目的[39,40]，因为文献中和规范机构使用的术语缺乏一致性，所以常难以比较在不同的实验室、装置、实验方法和步骤获得的实验结果。因此，有必要协调常用于描述从 pMDI 不同部分释放药物剂量的术语，现在正在努力对释放剂量的方式和测量装置的特性进行标准化，现已有报告。表 6 为文献中常用于各种不同剂量的定义。然而，即使对从 pMDI 释放的药物剂量的理解很清楚，对于释放至患者的肺部药物量也没有直接或一致的关联。表 7 为从不同装置和患者的典型的药物分布[41]。本表提供的数据是在平均 FEV1 为预期值的 105%（范围为 92%～119%）的健康志愿者身上进行的，特布他林处方以^{99m}Tc 标记，使用 pMDI 给患者用药，平均吸气流速是 33.8L/min（SD=6.7），总呼吸体积平均为 2.86L（SD=0.87），呼吸维持平均 9.1s（SD=0.7），患者呼吸模式的个体间变异相对较小，使用肺量计在线检测呼吸模式。以释放剂量（包括在驱动器上残留的药物）百分率表示的肺部药物沉积量约 16.7%（SD=9.6），沉积在口腔-咽喉部的药物量为释放剂量百分率的 68.3%（SD=10.2），残留在驱动器上的剂量百分率为 13.4%（SD=2.1）。在驱动器和口腔-咽喉部药物量的剂量百分率的个体间的变异度分别为 15.3%和 14.9%，总肺部沉积量的变异度为 57.7%。当使用 pMDI 进行吸入给药时，其总肺部沉积的极大差异是临床的结果变化的典型情况。

表 6 不同剂量的定义

术语	描述
标示剂量（定剂量）	表示 pMDI 装置中装载的实际药物量，可通过药物浓度乘以定量阀体积计算得到
释放剂量（阀外剂量）	从装置中释出的药物量，包括沉积在驱动器上的药物和吸入剂量
吸入剂量（标示剂量）	从装置中释出的药物量，不包括残留在驱动器上的药物，适合于患者吸入的药物量
细颗粒剂量	粒径小于 5.0μm 的药物量，为可吸入剂量部分
沉积剂量	沉积在呼吸道中的药物量，可进一步分为咽喉部药物量和肺部药物量

表 7 通过 pMDI 吸入的放射活性药物的沉积[41] （单位：%）

试验号	驱动器	喉	总肺	肺局部			P/C 比率	呼出
				中心	中间	周边		
1	15.5	76.3	7.1	1.7	2.4	3.1	1.87	1.1
2	10.4	81.8	6.1	1.2	1.9	3.0	2.54	1.6
3	15.6	66.2	12.5	2.9	4.3	5.4	1.86	5.8
4	12.8	75.6	10.9	3.2	3.9	3.8	1.20	0.8
5	11.7	66.3	21.8	6.5	7.1	8.2	1.27	0.2
6	11.8	57.6	30.0	7.8	9.3	12.9	1.65	0.6
7	13.1	71.7	15.0	4.1	5.5	5.4	1.31	0.3
8	16.0	51.0	30.0	6.3	11.2	12.6	2.00	3.0
平均	13.4	68.3	16.7	4.2	5.7	6.8	1.71	1.7
SD	2.1	10.2	9.6	2.4	3.3	4.0	0.45	1.9

从 pMDI 产生的药物气溶胶的粒度分布是药物释放装置的另一个重要的特性参数，其依赖于抛射剂和表面活化剂的配合、药物颗粒的最初大小和装置的设计（计量阀门、喷雾口及驱动器）。起初的雾化过程和随后的喷雾蒸发决定了沉积在口腔-咽喉和肺部区域的药物气溶胶量。从 pMDI 释放的气溶胶颗粒大小实验常数的变化主要与药物处方有关。图 8 表现了粒度变化为驱动器口距离函数，实验使用的 pMDI 为市场购得，激光衍射仪（Malvern，Mastersizer X）用于测定药物气溶胶的大小。装置被安装在一个平台上，驱动器和激光束的中心之间的距离被选择在约 5cm、10cm、15cm、20cm 和 25cm。按照说明书操作 pMDI，每一距离重复测定 5 次。

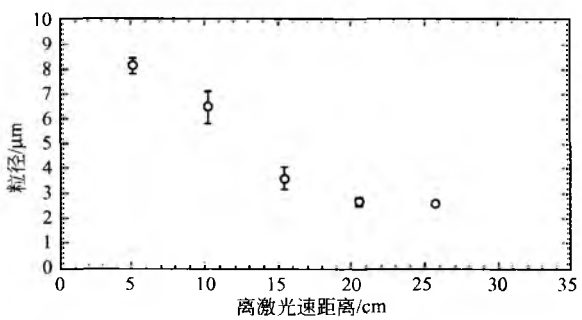


图 8 粒径随距驱动器口距离的变化

当距离为 5cm 时，药物颗粒的大小约为 8μm；而在

35cm时由于蒸发收缩，颗粒的大小逐渐减小到约2.5μm；在距离10cm时，颗粒大小约为6.5μm，这个距离为驱动器口至口腔-咽喉区间的距离。药物沉积在口腔-咽喉区域主要由于惯性碰撞，因此其更多依赖于粒度大小而不是颗粒速度。惯性碰撞与粒径的大小的平方成比例，与颗粒速度成直线比例。粒径随距离的增加指数地减少，颗粒直径也因药物处方的不同（气压、非挥发浓度等）而不同。

2. 高频振动装置

超声波喷雾器

超声波喷雾器利用高频音波能把液体药物处方变换为气溶胶云。虽然这些装置自20世纪60年代以来就被应用于临床，但其使用没有喷射喷雾器和pMDI那样广泛。与喷射喷雾器相比，超声波喷雾器一般具有较高的药物雾化量，但其产生的雾化点处的粒度分布也明显较大[42]。超声波喷雾器用于人呼吸道给药优缺点列于表8。与喷射喷雾器相比，药物液雾离开超声波喷雾器的速度相对较慢，因此，在治疗过程中很少患者存在协调问题。

表8 超声雾化器的特性

优点	缺点
患者协调性问题很少	颗粒粒径大而效率低
释放气雾的速度低死体积小及易操作	具有微生物污染的危险
剂量大而给药快	药物可能降解
不需要抛射剂	难携带且价格贵
	需要电源

操作期间超声波喷雾器的储液池温度快速地升高，Phipps等[20]的研究表明，喷雾器中溶液的温度在操作5min后，从室温（约23℃）升高到大于30℃，在操作30min后，温度超过了40℃。温度的显著上升可能引起一些药物在药液雾化期间被降解[43]。由于使用超声波喷雾器给药而引起药物效价的改变文献中已有报道，与更稳定的小分子药物相比，蛋白质和多肽的降解较严重。

气溶胶发生的机理：超声波喷雾器使用一个压电转换器来发生气溶胶，当受到高频电动能时，压电转换器振动产生气溶胶；当液体不断地穿越或置于振动面上方时，波模式产生并在液体中向溶液表面传波，振动表面的振幅不断增加，至表面张力波变成不稳定并断裂，液体微滴就形成了[44]。Lang[44]描述了计算超声波喷雾器产生的微滴直径（D）的一个经验式。液滴直径与液体的毛细波长（λ）、相对密度（ρ）和表面张力（σ）以及激发频率（F）成比例：

$$D = 0.34\lambda = 0.996\frac{\sigma}{\rho F^2} \qquad (10)$$

对于喷射喷雾器和pMDI，处方特征包括液体的相对密度、表面张力、黏度和气压，这些影响处方性质的喷雾器特性在上述公式中已被描述。装置的配置，如挡板的位置、在液体处方向压电转换器输送的机械装置以及药物储藏缸的大小也影响其特性。可以通过调节单位频率和振幅，控制雾化量和粒度分布等气雾特征。

性能特征：Greenspan[43]总结了常用的超声波喷雾器的效能。激发频率范围从1.3MHz到约2.6 MHz，其产生的气溶胶的MMAD为1～7μm。有些超声波喷雾器产生相对较大的气溶胶颗粒，通常与其较低的激发频率有关。Hager等[45]运行了两种超声波喷雾器的性能，使用治疗卡氏肺囊虫肺炎伴获得性免疫缺陷综合征（AIDs，艾滋病）的喷他眯溶液，研究中使用的超声波喷雾器为Fiso Neb（型号FZV 40 BAMKI，Fisons）和Porta-Sonic（型号8500GB，Devilbiss），研究发现使用Fiso Neb以6L/min的气流速率，在药物浓度为50mg/mL和10mg/mL时，其雾化输出量分别为201.4mg和36.7mg；对应的Porta-Sonic喷雾器其雾化输出量减少为85.2mg和23.6mg。但从Fiso Neb产生的气溶胶的MMD为5.8～6.93μm，而Porta-Sonic喷雾器的则为1.96～3.04μm。与Porta-Neb喷雾器相比，Fiso Neb具有较高的雾化量，其原因为Fiso Neb喷雾器产生的气溶胶颗粒较大。但如果这些颗粒全被传送到患者的吸入口，将由于微滴较大而不可吸入，因此，超声波喷雾器的总剂量效率一般比喷射喷雾器要差。

先进的给药技术

使用各种不同的给药装置，如在本章上半部分讨论的pMDI、喷雾器和DPI，已对患者的生活质量造成了巨大的影响，因为吸入的药物在呼吸道疾病的控制上具有重要作用。然而，过去在主要的肺部给药的成功处更多的是使用药物的治疗性质，而不是治疗装置本身[30]。现在使用的给药装置通常效率不高、输送到作用部位的药物量少、药物大部分残留在装置中或沉积在口腔内，常引起不希望的副作用。

已描述的目前给药装置的缺点限制了其符合要求的能力，这些要求是由活性小分子和生物技术治疗剂的进步而产生的。越来越多的新药是治疗各种不同疾病的潜在吸入候选治疗剂，包括非呼吸道疾病，如糖尿病等，这就迫切需要有更先进的给药技术，更精确地将药物输送至用靶部位而起作用，同时具有更高的效率和优良的重现性。在过去的10年中，随着气溶胶技术和电子学的进步，新的药物给药的要求刺激下，在吸入剂给药领域已经有许多发明，大部分技术已经试着着手解决问题，如使用呼吸制动功能和使用低发射压力的新抛射剂以减小从pMDI释放气溶胶的弹道速度，目前焦点已转移到定义和发展更“理想”的吸入器以用于不同的药物治疗各种不同疾病，下面描述了设计这些新的肺部给药装置的一些特征[30]。

- 气溶胶的产生与患者的吸入无关；
- 气溶胶剂量产生的持续时间应该落在缓慢吸入周期中重要的部分，大于1秒的产生时间将准许患者在吸入期

间有效地与气溶胶输出产生更好的协调作用；

• 气溶胶云应大部分由小于 5μm 的颗粒组成，如果肺部外围是作用部位或全身给药的部位，则细的气溶胶才可到达肺部外围，改变并控制平均气溶胶的粒度分布的能力是一个附加的优点，它能使气溶胶在呼吸道不同的区域里目标沉积；

• 气溶胶的速度应尽可能小以减少口腔-咽喉部的沉积，并提供最大的肺部给药；

• 吸入器应使用简单，需要较小患者协调性，最好是呼吸制动；

• 吸入器应如 pMDI 般大小，适合口袋或手提包携带，且准许多次使用；

• 吸入器应为多剂量（如大于半数剂量）；

• 应包含一个剂量计数器；

• 装置应易于制作，且价格合理；

• 装置在其有效期内应产生均匀的剂量，避免微生物和其他的污染，且有适当的有效期；

• 避免使用抛射剂，或设计对环境低影响的抛射剂。

1. 压力驱动装置

新一代压力定量吸入器

据估计，全世界患哮喘的患者约 1 亿，其中超过 1500 万在美国[45]，同时 pMDI 具有许多缺点，它大部分仍然为治疗哮喘的处方药产品，在吸入给药领域，pMDI 长期占主导地位，这主要是由于其方便，但有效地使用则是相当困难的。Everard[46]指出，制药行业选择保持 pMDI 的缺点并开发 CFC 的替代品，而不愿发展新的装置以符合现在的要求，当制药工业面临废除 CFC 的挑战时，就投入广泛的资源保护 pMDI，以及通过使用储雾罐和呼吸驱动装置等方法来减少口腔-咽喉部的沉积。

新抛射剂的 pMDI：自从 1974 年以来，大家已相信 CFC 对地球起保温作用的臭氧层有破坏性，Coyne[47]详细地叙述了蒙特利尔协议谈判和形成的历史和进展，而且介绍了美国的药学气溶胶 CFC 联盟（PACC）和欧洲国际药学气溶胶联合体（IPAC）的目标和历史，这些组织的目标是寻找能用于 pMDI 的 CFC 抛射剂替代品。

由于避开了 CFC 抛射剂，对用于 pMDI 的药物处方的改造有很多困难，因为没有经批准的可供选择的药用抛射剂[48]，用于 pMDI 的抛射剂的替代物需要在处方、装置设计、装置组成和生产等许多基础方面进行改变。抛射剂的一些类别可以用于 pMDI 的替代品，但每个均有其缺点，如 Leach[49]列出于表 9 所示。

表 9 抛射剂替换剂及其缺点

抛射剂的替换剂	缺点
二甲醚	可燃
烃	易燃的，高挥发性的有机化合物含量
氢氯氟碳	会破坏臭氧层
压缩气体（例如，二氧化碳和氮）	在产品有效期内不一致的压力

到现在为止，有两种替代抛射剂——四氟乙烯（HFA-134a，CF_3CHF）和七氟丙烷（HFA-227，CF_3CHFCF_3）已成功地试验并开发成 pMDI 的抛射剂，这两种抛射剂的物理性质与 CFC 的比较列于表 10 中。

表 10 抛射剂 HFA 与 CFC 的物理性质

抛射剂	21℃时的密度/(g/cm³)	20℃时的蒸气压/psi	1atm 时的沸点/℃
CFC-11	1.49	−18	23.8
CFC-12	1.33	67.6	−29.8
CFC-114	1.47	11.9	3.6
HFA-134a（代替 CFC-12）	1.21	81	−27
HFA-227（代替 CFC-12，CFC-114）	1.41	43	−17

在使用 CFC 和 HFA 为抛射剂的 pMDI 处方间有许多类似之处，如操作原理和基本组成等，但由于物理性质（如蒸气压、相对密度和溶剂化特征）的差别，以 HFA 为抛射剂的 pMDI 遭遇了复杂的处方挑战和需要新的硬件设计。在基于 CFC 的 pMDI 中常使用的表面活化剂是油酸、聚山梨醇三油酸酯和大豆卵磷脂，不但帮助形成稳定的处方，而且帮助润滑计量阀门系统，但与 CFC 相比，这些表面活化剂在 HFA 中表现为较低的溶解性。因此，有时共溶剂将被加入到 HFA 处方中，使用 HFA 作抛射剂时，在药物处方中需要筛选新的表面活化剂。然而，在产品批准成为一般的临床使用前，产品处方的任何方面的改变，都需要进行广泛的试验。

因此 pMDI 中取消 CFC，为改进 pMDI 的特性以及说明 pMDI 技术缺点提供一个机会，Kelle[50]比较了使用 CFC 和 HFA 作为抛射剂的处方中，三种不同活性化合物的特性，丙酸倍氯米松（BDP）、布地奈德和色甘酸二钠（DSCG），HFA 处方为比较三种市场购得的装置，Becotide 100®、Pulmicort® 和 Intal®，测定沉积在喷嘴和 USP 喉上的药物量，同时测定粒度分布和细颗粒剂量。表 11 比较了使用 CFC 和 HFA 为抛射剂的 pMDI 的运转特性。

表 11 CFC 和 HFA 作为抛射剂的 pMDI 的性能[51]

样品	喷嘴/μg	USP-喉/μg	剂量 FPD/μg	FPF/%	MMAD/μm	GSD
Becotide100®CFC 混悬剂（100μg），10072926	16.6	55.2	26.9	26.9	~3.1	1.63
BDP 非 CFC 混悬剂（100μg），809/L86-04	7.8	22.0	60.8	60.8	~1.4	1.87
Pulmicort®CFC 混悬剂（200μg），YK702	21.4	114.0	43.3	21.7	~4.5	1.63
Budesonide 非 CFC 混悬剂（200μg），821/372-05	33.4	46.7	86.2	43.1	~3.1	1.55
Intal®CFC 混悬剂（1000μg），FEF2E	419.3	385.7	147.8	14.8	~4.0	1.81
DSCG 非 CFC 混悬剂（1000μg），802/352-01	116.8	488.4	300.0	30.0	~3.8	1.65

对于 BDP 处方，当使用无氟氯碳化物处方时，细颗粒剂量从 27μg 增加到约 61μg，而药物在喷嘴中和 USP 喉中的损失分别从 17μg 和 55μg 降低到约 8μg 和 22μg，细颗粒剂量的增加起因于 MMAD 的降低，从 3.1μg 降低到约 1.4μm。混悬液处方的粒度分布主要由处方中的药物粉状颗粒来控制；而对于溶液处方，粒度分布则由其他的因素决定，如处方和装置组成。对于布地奈德处方，细颗粒剂量的增加与药物在喷嘴中和 USP 喉中的量的减少有关，由于都是混悬剂处方，从两种 pMDI 处方释出的布地奈德的粒度分布变化很小；用 Intal pMDI 与 DSCG 相比较后获得了相似的结果，只是随沉积在喷嘴上的药物量的减少，细颗粒剂量增加。这些特性的改变典型地减少了口腔-咽吼部位的药物沉积，使得产生一个附额外的优点，即较少的类固醇副作用，如假丝酵母属感染和喉的沙哑[49]。

呼吸致动功能的 pMDI：因为由 pMDI 产生的药物气溶胶是在非常短时间之内，即毫秒级的时间内完成的，所以 pMDI 喷射和患者的吸入必须协调或者说“使同时”，在气溶胶产生时，这让患者吸入并捕获气溶胶产生困难。据估计，由于 pMDI 喷射和患者的吸入无法协调，超过一半的患者（47%～89%）治疗效果不佳[51,52]。呼吸致动的 pMDI（Autohaler，3M Riker）被发明，减少了致动-吸入协调的需要，这个装置减少了由使用技术的差别所引起的 pMDI 的特性的变异性。Autohaler 由患者的吸入气流启动，使用 Autohaler 时，患者转动装置顶部的水平仪，使得弹簧机械装置装载药罐，同时卡住药罐和驱动器之间的轮叶机械装置，当患者的吸气流速超过 30L/min 时，轮叶启动且压迫药罐进入驱动器，释出药物。

Newman 等[53]进行了一项临床研究，使用印像技术测量不同目标部位的药物沉积，比较了传统的 pMDI 和 Autohaler。参与研究的患者被分为两组，分别为协调性好的和差的。最初，患者使用自己的吸入器作为沉积基值，当经过指导正确用法后使用自己的吸入器及使用 Autohaler 后测定其沉积数据，表 12 列出了协调性好的组（$n=10$）及协调性差的组（$n=8$）在吸入后沉积在不同部位的气溶胶剂量的百分率。

表 12 沉积在不同部位的气溶胶剂量的百分率[53]

部位	自己的吸入器	指导后用自己的吸入器	Autohaler
协调性好的组			
肺	18.6（2.9）	12.8（1.8）	17.5（2.8）
咽	64.4（3.8）	71.1（2.5）	61.2（4.5）
驱动器	16.1（2.0）	15.8（1.2）	21.0（2.8）
呼出	0.7（0.4）	0.3（0.1）	0.3（0.1）
协调性差的组			
肺	7.2（3.4）	22.8（2.5）	20.8（1.7）
咽	67.7（4.7）	59.3（2.3）	60.7（2.2）
驱动器	23.5（3.8）	17.6（0.9）	18.2（1.3）
呼出	1.7（0.9）	0.3（0.1）	0.2（0.1）

对于协调性好的组，使用他们自己的 pMDI 和 Autohaler，其患者沉积模式非常相似，约 18%的气溶胶剂量沉积在肺部，而约 60%的剂量沉积在口腔-咽喉部，且在教患者适当的 pMDI 技术后，在肺部的沉积有变少的趋势，这可能的原因是患者具有不同的能力使他们自己熟悉研究中所教的新技术；对于协调性差的组，在接受了指导或使用了 Autohaler 后，肺部沉积有了明显的改善，有超过 20%的气溶胶剂量沉积在肺部中。增加肺部沉积有益于肺功能参数的改善，FEV1 从基线显著地增加。

2. 新的压力驱动装置

2.1 Respimat™

在呼吸道用药治疗的 pMDI 中禁用 CFC 的使用协议刺激了无抛射剂吸入给药技术的发展，德国 Boehringer Ingelheim 开发的 Respimat 是在开发的技术之一[54-58]。装置由 Uniblock、弹簧、具有毛细管的药物储存筒和止回阀组成。Uniblock 是装置的主要部分，含有放置角度相反的两

Y

个喷嘴，弹簧是动力源，转动装置的底部，旋转运动转换为衬垫运动，同时拉紧弹簧，并用止回阀推动毛细管至底部；在这个运动过程中，约 13.5μL 的药物溶液经过毛细管被转移至泵室。当患者按下释放钮时，储存在弹簧上的机械力推动毛细管和止回阀到上部，通过在 Uniblock 上的两个喷嘴驱动定量体积的药物溶液，产生液体的两个喷射。两个喷射以一受仔细控制的角度互相对立，互相撞击产生气溶胶。

Newman 等[55]使用 γ-影像技术在几名患者身上试验了开发中的 Respimat 原型的沉积情况，在这些研究中，检查了支气管扩张药非诺特罗和皮质类固醇类药 9 去氟肤轻松的沉积，Respimat 中的非诺特罗处方以水为溶解介质，而 9-去氟肤轻松的处方中则含有 96%乙醇，这些研究的实验数据列于表 13 中。

表 13 使用 Respimat 后平均剂量沉积百分率[55]

装置	处方	肺沉积	咽沉积	参考文献
原型Ⅲ	非诺特罗（100μg，水溶液）	31.1	53.7	[55]
原型Ⅲ	9-去氟肤轻松（250μg，醇溶液）	39.7	39.9	[56]
最终型号	非诺特罗（100μg，水溶液）	39.2	37.1	[57]
最终型号	9-去氟肤轻松（250μg，醇溶液）	44.6	26.2	[57]

与型Ⅲ3 相比，最终型号 Respimat 的运转特性明显得到改善，药物非诺特罗在肺部的药物沉积量从约 31%增加到 39%，9-去氟肤轻松从约 40%增加到 45%；而在口腔-咽喉部位的沉积非诺特罗从约 54%减少到 37%，9-去氟肤轻松从 40%减少到约 26%。比较处方为水溶液和醇溶液的沉积数据，可以看到醇溶液处方具有更好的特性，这可能由于不同的处方具有不同的粒度分布。在使用 Respimat 时，水溶液处方的气溶胶的 MMAD 为 2.0μm±0.4μm，而醇溶液处方气溶胶的 MMAD 为 1.0μm±0.3μm[53]。这一装置的总沉积效率明显比常用的 pMDI 高 2～3 倍。

2.2 AeroEclipse™

图 9 为 Monaghan/Trudell International 公司的 AeroEclipse，是以压缩空气为雾化源的喷雾器，其操作模式既可连续喷雾也可呼吸触动。使用不同的呼吸模式，喷雾器连续喷雾或者呼吸触动进行了体外特性试验[59]，使用活塞泵模仿儿科患者的多种呼吸模式，表 14 列出了实验的数据，三种呼吸模式的平均药物量分别为（11.1±0.74）%（P1）、（22.9 ±2.74）%（P2）及（36.3±1.22）%（P3），平均质量中间空气动力直径为 3.55μm±0.07μm，其几何标准差为 2.55。实验也进行了与小体积喷雾器装置特性的比较[60]，发现其输出速率（每分钟输出的量）比其他 SVN 更有效。



图 9 AeroEclipse 喷雾器示意图（Monaghan/Trudell International 供图）

表 14 呼吸模式[60]

模式	呼吸体积/mL	呼吸频率/(1/min)	雾化
P1	50	40	连续
P2	200	25	连续
P3	440	19	呼吸致动

2.3 AERx™

由 Aradigm 公司的开发的 AERx™是一种定量液体吸入器，设计用于输送各种不同的药物至肺部外周。如图 10 所示，系统的组成为：一个单位剂量用完即可丢弃的容器装备一个喷嘴数列和一个活塞装配，以及一电子系统（包括呼吸触动功能和依从性监视功能）[61]。

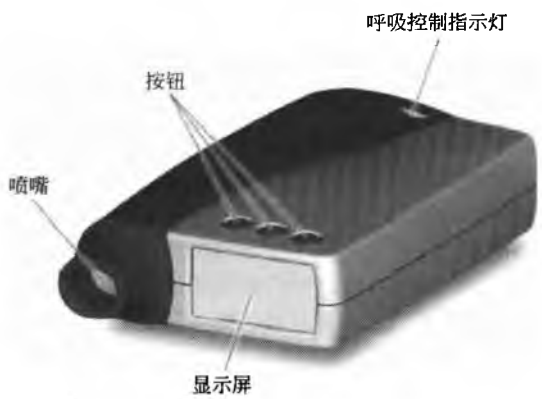


图 10 Aradigm 公司网站展示的 MDI 吸入器

单剂量包装包括单位剂量储液池和激光钻孔的喷嘴数列，储液池和喷嘴数列与热密封圈连接，在热密封圈破裂后，允许处方液体从储液池向喷嘴流动，活塞装配由电动机、活塞和凸轮组成，其压缩单位剂量包，使得药物在压力下被挤出喷嘴数列，形成适合供吸入的气溶胶。AERx™也有内部电子监视功能，测量患者的吸气流速作为呼吸时间的函数，根据测定的吸气的流速和时间，调整剂量为最佳的输出。给药剂量也具有计数功能，借此提供治疗的记录和提供患者治疗依从性的指示[62]。

对AERx™的体外和体内的特性均已进行了实验[63~67]，Schuster等[61]报道了在呼吸流速为20～100L/min时，体外释放剂量的实验数据的变化，表15是在不同的吸入流速下表示的释放计量为装载剂量的百分数，当吸入流速为30～70L/min时，释放的剂量是一致的，平均为从装置中发出的装载剂量的60%～70%，当吸入流速20L/min时，从装置中发出的装载剂量的百分率为51%，当装置使用这种低流速时，气溶胶不能有效地引入空气，这从喷嘴对面的气路中获得大量的药物可以得到确认[61]。随吸入流速的增加释放剂量也减少，这如作者所解释的那样可能由于的湍流沉积的增加。

表15 喷出剂量（占总剂量的百分数）与吸入流速（n=5）[61]

流速/(L/min)	喷出剂量/%
20	50.6±2.0
30	68.6±3.0
45	72.3±2.5
60	70.9±1.5
70	68.5±1.3
85	66.1±5.1
100	61.5±1.9

一项体外和体内的研究比较了AERx和以SmartMist™系统操作的pMDI装置的特性，使用影像技术进行体内研究[64]，表16为AERx和pMDI装置的体外实验数据。

表16 AERx装置和pMDI溶液的体外对比[63]

项目	MDI溶液（n=4）		AERx装置（n=4）	
	平均	SD	平均	SD
喷出剂量[1)]/%	63.2	8.2	60.8	7.1
FPF[2)]/%	71.0	5.6	90.6	1.6
MMAD/μm	1.2	0.1	2.6	0.1
GSD	1.8	<0.1	1.5	0.3

1）AERx剂型或MDI阀中的放射活度百分数。

2）小于5.7μm的液滴气化的放射活度。

体外数据表明在相当的释放剂量下，AERx的细颗粒比例约为释放剂量的91%，而pMDI约为71%。质量中间空气动力直径AERx为2.6μm，pMDI为1.2μm，具有较大的GSD。使用闪烁扫描法，一个实验进行了两个装置体内特性的比较[64]。平均口腔-咽喉部和胃部的沉积量（AERx以装载剂量的百分率表示，pMDI以阀外剂量的百分率表示）：AERx为6.9%，相对标准差（RSD）为47%；pMDI为16%，RSD为42%。肺部的平均沉积量：AERx为53.3%，RSD为10.9%；pMDI为21.7%，RSD为30.9%。实验的数据同时表明，与使用pMDI（c/p=1.66）比较，使用AERx（c/p=1.15）时，得到肺部均匀的药物分布，其中c/p为沉积在肺部中心区的药物与外周区的药物的比。

2.4 HaloLite™

如图11所示的HaloLite，为由英国Medic-Aid公司开发的手持药物释放系统。此使用压缩空气的装置由储药室、控制单元和气溶胶发生器组成，其操作为手持式的、靠按压力量进行的。气溶胶的产生是基于传统的喷雾器原理，控制单位允许患者选择布地奈德喷雾混悬液、沙丁胺醇或特布他林，因为装置可以根据预先设定的释放剂量为50μg布地奈德、200μg沙丁胺醇或500μg特布他林等进行校正，这些计量是可以在市场购得的每个药物预先混合的溶液处方[68]。装置可以分析患者的呼吸模式（流速、频率等），以确定：①用于每次吸入的气溶胶搏动时间；②患者正在吸入还是呼气；③吸入的开始时间；④启动药液雾化过程。

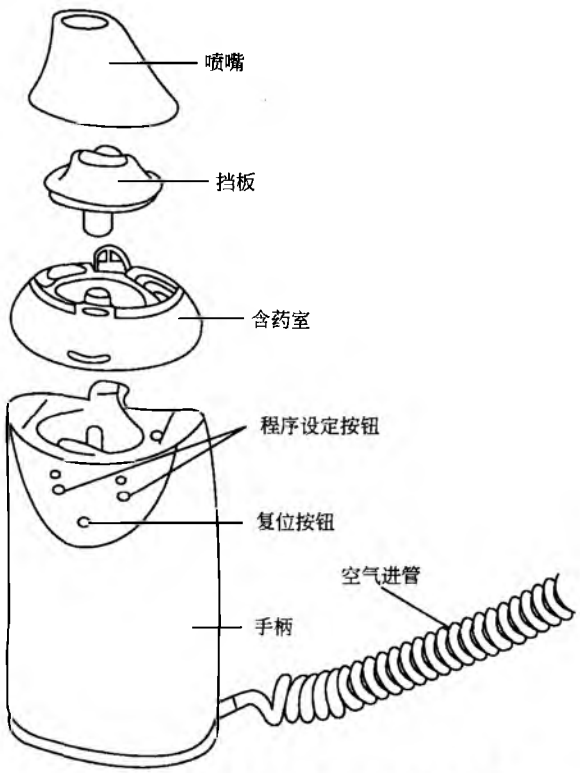


图11 HaloLite结构示意图（Medic-Aid公司供图）

体外实验的数据表明，装置释出的细颗粒组分（小于5.0μm）的范围为70%～80%，且在预先设定的剂量为63μg的1% NaF溶液时，其变异系数为释出剂量的

Y

6%[69]。使用健康志愿者和哮喘患者对装置进行了体内评估，健康志愿者的变异系数是11%，而哮喘患者为21%。

3. 新的高频振动装置

3.1 AeroDose™

AeroDose™是由AeroGen公司开发的电池操作的药物输出装置，使用振动小孔技术生产适合于人体吸入的药物气溶胶。其装置的原理图和操作原则在图12中予以说明，装置由药物罐、气溶胶发生装置和电子控制单元组成，气溶胶发生器为有从内向外逐渐变小的600个小孔的拱形板，其与压电结晶接触而可以振动，压电材料将会在超声波频率下发生小的物理移位而以低速度发生气溶胶。每次使用期间，处方的液滴（约15μL）从多剂量罐通过定量泵分送到拱形板，如图12所示，通过呼吸触动产生气溶胶。

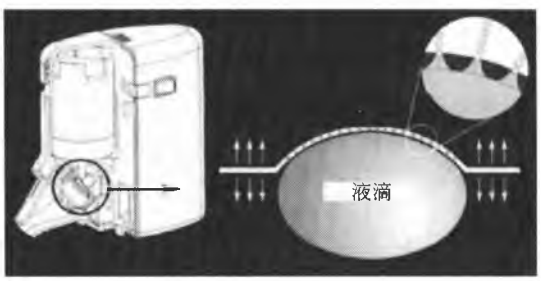


图12 AeroGen公司网站展示的AeroDose™示意图

三个AeroDose装置用于体外的特性试验，使用硫酸沙丁胺醇，每剂量标示为120μg[70,71]，三个装置发送的液体平均体积为15.2μL，变异系数为2.7%，喷出剂量以标示剂量百分率表示，分别为80%（CV=5.9%）、81%（CV=3.7%）和79%（CV=4.0%），MMAD分别为2.0μm（CV=13%）、2.0μm（CV=5.7%）和1.9μm（CV=21%），其GSD分别为2.1（CV=7.2%）、2.2（CV=4.5%）和2.4（CV=4.7%）。使用放射性同位素99mTc示踪的硫酸沙丁胺醇，进行肺部沉积试验，测定了AeroDose和传统的pMDI在肺部沉积的药物量，在试验中共有6名志愿者参加，pMDI的平均肺部沉积为发出剂量的18%（CV=32%），而对于AeroDose则为发出剂量的70%（CV=28%）或总给药效率约为56%。

3.2 定量溶液吸入器

由Sheffield Pharmaceuticals开发的定量溶液吸入器（MSI），利用与AeroDose一样的药液雾化原理。MSI是一个便携的手持式药物输出装置，如图13所示，使用一个动力泵，输送药物溶液至超声波杯的表面，其制动依赖于压电结晶，在约1秒钟内雾化[72,73]。

使用硫酸吗啡的全身性吸收实验进行MSI的体内的特性试验[72]，给药健康志愿者硫酸吗啡的总剂量为1.25mg，分5次制动，每次250μg，平均沉积在肺部的药物量约为



图13 Sheffield Pharmaceuticals公司网站展示的MSI

800μg，而少于500μg的药物量留在口腔-咽喉部，因此平均呼吸沉积效率是吸入剂量的约64%，沉积在外围呼吸区的平均药物量略微超过300μg，略少于300μg沉积在中间的肺口部，约200μg沉积在中央区。沉积在外围和中央区的药物量比为1.1～2.2；血浆中硫酸吗啡浓度在吸入后3min到达高峰，皮下注射为15min，吸入的血浆浓度峰值为皮下给药的2倍以上。

3.3 振动膜喷雾器

振动膜喷雾器现在是由德国Pari GmbH公司在开发，基于英国技术合作者的TouchSpray技术。主要的气溶胶发生原理与AeroDose类似，使用压电材料作为动力源振动有药物溶液微滴的表面，振动膜喷雾器由两个主要的组成，即膜和压电圈，膜是圆的、具有小孔的纤瘦金属制的板，环形的压电驱动器驱动膜振动，使得液体如微滴经过小孔发放，产生气溶胶。与AeroDose的单剂量装置不同，振动膜喷雾器类似传统的喷雾器，是一个连续发生装置，在吸入和呼气期间产生气溶胶[74,75]。

使用振动膜喷雾器的一个功能模型进行的体外实验数据表明，药液连续雾化约8min的平均释放剂量百分率约为载入装置剂量的79%，给药装置的输出率约为238μg/min，由Malvern衍射颗粒大小测定仪测定的质量中间粒径是4.6μm。也发现装置的累积输出量与药液雾化的时间成线性比例，这表示在药液的整个雾化过程中，其输出量是常数[75]。使用基于功能模型发展的原型装置进行的实验的数据表明，装置的释放剂量从79%降低到约50%，残留在装置中的药物量从477μg增加到约1060μg，以装载剂量的百分率表示为从19%改变到43%。残留在装置中的药物量的增加降低了装置的输出效率。如作者建议的那样，通过重新设计流量通道和采用呼吸触动功能除去呼气期间药液雾化过程以改善输出效率[74]。

4. 新的电动力学装置

电动力学（Electrohydrodynamic，EHD）雾化是这样一个过程，即当液体受到电场作用时，液体表面破裂成为雾状微滴。在毛细管的出口处，液体半月板在电场的作用下成为锥形，锥尖端断裂成为细小的喷雾、带电子的气溶胶[76]。锥形-喷射模态提供的气溶胶特征为单分散性的，这是希望得到的特性，所产生的微滴/颗粒具有极广的粒径大小，从微米以下到数百微米大小，其大小主要依赖于液体的流速、外施电压大小以及液体的物理化学性质。当考虑用于肺部给药时，其大小应为1～5μm，EHD药液雾化技术较容易产生单分散气溶胶，这是其他雾化过程无法相比拟的优势。另外，气溶胶是从相对大直径（即100μm）的毛细管喷嘴中发出，因此，不可能在雾化位置处或在每剂量的定量期间阻塞，当认为粒度范围为1～5μm时，使用EHD较易产生单分散气溶胶的能力也是任何其他的气溶胶发生器无法比拟的[77]。气溶胶的粒度分布可以通过调整许多变量进行控制，如药物处方的物理化学性质、操作条件和电场等，EHD技术的另一个主要的临床和技术上的贡献是其提供了柔软的（等动力学的）几乎单分散颗粒的气溶胶云给患者，因为气溶胶的形成不需要任何的液体抛射剂或其他压力系统，EHD过程能雾化范围极宽的药物处方，制造精度要求低（也就是价廉产品），且易于小型化。这些基本特征支撑着EHD作为肺部给药装置的能力，能够雾化广泛排列的药物处方，对人呼吸道提供准确、重复性好的所需要的药物剂量。Battelle Pulmonary Therapeutics（BPT）公司目前正在开发EHD的一个序列装置，范围从小到手用型用完即可丢弃的单元、家用台式气溶胶给药装置，大到设计用于高输出且可不断操作供临床使用的装置（图14）。

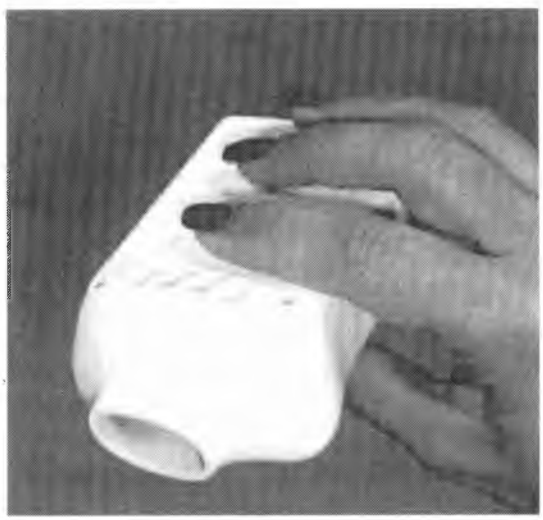


图14 BPT开发的手持EHD装置

4.1 体外性能

在进行临床评价前，需对原型EHD肺部给药装置进行深入的体外特性研究，包括释放剂量的均匀性以及粒度分布的再现性等[78]，表17为其剂量均匀性。标示剂量以定量活性药物量标示，与装置中液体溶液一致，释放剂量是在喷嘴口得到的雾化药物量，装置释药效率是释放剂量对标示剂量的比。平均的释药效率约为94%（SD≈3.2），变异系数为3.4%，试验用的两种装置的释药效率分别为93%（SD=3.60，n=5）和95%（SD=2.8，n=5），装置间差异为1.7%（变异系数，n=2原型），研究中装置间以及货架期间同一装置在药物输出量上无显著性差异（p>0.05）。

表17 EHD肺部给药装置输送新化合物的剂量均匀性[78]

装置号	驱动次数	标示量/μg	喷出剂量/μg	输送效率/%
装置1	3	75	74.2	98.9
	15	75	68.5	91.3
	30	75	69.1	92.1
	45	75	67.8	90.4
	60	75	67.8	90.4
装置2	3	75	71.3	95.0
	15	75	67.8	90.4
	30	75	73.4	97.9
	45	75	71.7	95.6
	60	75	71.7	95.6
平均			70.3	93.7
SD			2.42	3.22
CV/%			3.44	3.44

图15为标示剂量为每揿75μg的装置中和撞击器中不同的级内收集的药物量，使用沉积在不同级的药物量计算MMAD和GSD，结果MMAD为2.85μm，GSD为1.6；气溶胶的细颗粒比例（FPF）为释药剂量的90%（约5.8μm），为USP喉远侧端剂量95%（约5.8μm）。

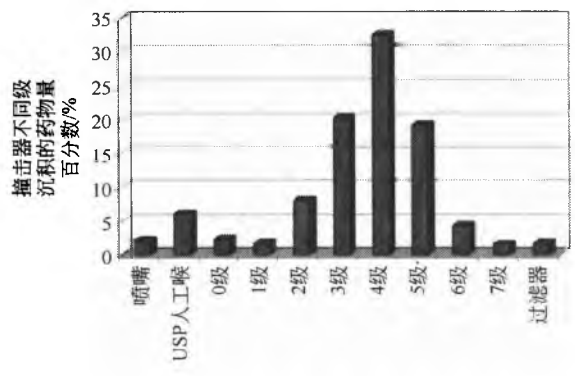


图15 EHD装置输送新化合物的粒径分布[78]

4.2 体内特性

Ⅰ期临床试验在健康志愿者身上进行，评估了原型EHD肺部给药物装置特性[78]，EHD装置与一个市场购得

Y

的胶囊型干粉吸入器（DPI）进行比较。NCE 使用了两种处方；第一种为适用于 DPI 的一种粉状处方；第二为适用于 EHD 装置的液体溶液处方。每种处方均用放射性同位素^{99m}Tc 示踪，每种装置的肺部沉积药物量使用 γ 闪烁扫描法进行定量。每个志愿者使用 DPI 给药一个剂量和使用 EHD 装置进行三个不同剂量的给药。DPI 的标示剂量为 1000μg，EHD 装置的为 150μg、250μg 和 400μg，每个试验者经多次采取血样至 8 小时，收集后测量血浆药物浓度。四个剂量的用药间隔为 1 个星期。

对于 400μg 剂量，EHD 装置全肺平均沉积效率以释放剂量百分率表示约为 78%（CV=7.3%）。

图 16 表示 DPI 和 EHD 肺部给药装置的有代表性的 γ-闪烁扫描图，可以看出，使用 EHD 肺部给药装置产生了肺区均匀的沉积分布，口腔-咽喉区只有 16%的沉积，消化道事实上没有药物出现。而使用 DPI 时，沉积在口腔-咽喉区的药物量为定量剂量的 67%，与使用高剂量的 EHD 装置相比，将近有 6 倍高；使用 DPI 时，血浆药物浓度的 AUC 高于 EHD 装置沉积在肺部剂量的约 20%，这清楚地表明，DPI 的比较高的全身性吸收很可能来自喉和消化道的吸收。

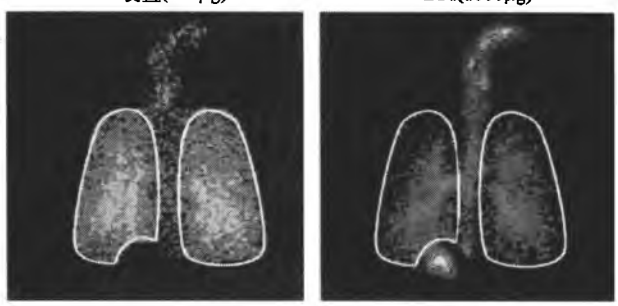


图 16 EHD 和 DPI 装置用药后的肺部影像[78]

5. 性能比较

基于文献报道的数据对不同的给药装置的特性进行比较常常是困难的，因为所使用的装置不同，而且根据装置的特征而使用的实验方法也不一致。然而对于帮助选择最好的装置用于人呼吸道给药来说，深入理解装置的不同特征是十分重要的。表 18 总结了目前在发展的给药装置的性能。

表 18 不同装置的性能比较

用于液体给药	装置特点	粒径	输送效率	体内沉积
Respimat	机械弹簧	3.5～6.5μm		喷出剂量的 30%～45%
AeroEclipse™	压缩空气动力	约 3.6μm	标示量的 11%～36%	
AERx	机械和电池动力	2～4μm	标示量的 50%～72%	装载量的 53%左右
Halolite	压缩空气动力	约 3.0μm	标示量的 8%～10%	标示量的 8%～10%
AeroDose	振动小孔	约 2.0μm	标示量的 80%左右	喷出剂量的 70%左右
MSI™	振动小孔	FPF>50%		喷出剂量的 64%左右
膜雾化器	振动小孔连续模式	NA	喷出剂量的 50%～80%	NA
EHD	电喷雾	2～4μm，可调	标示量的 93%左右	喷出剂量的 78%左右

适合于人呼吸道特殊药物给药的药物传递系统的选择不仅依赖于装置的选择，而且依赖于许多其他的因素，如药物性质、处方中的赋形剂、希望的作用部位、市场前景以及政策法规上的要求。在处方发展过程中，充分理解药物的性质很重要，这样可以更好地选择适当的赋形剂系统。特殊药物的赋形剂的选择也影响从给药装置中产生的气溶胶的粒度分布，例如，增加处方溶液中挥发性成分，因为溶剂的蒸发能减小气溶胶颗粒的直径，这是另一个能优化药物处方和装置性能的变量。该装置是适用于局部给药或全身吸收的。在装置选择过程中，药物产品的稳定性也应予考虑，一些药物由于多剂量储存时药物产品的不稳定性，只能以单剂量包装，因此，适合配备单剂量包装的装置也是必要的。上面提到的药物输出装置有不同的特征，对药物的处方有不同的需求，没有单一的释药装置能符合所有的需要，为保证一个新的吸入药物产品的成功开发，对于吸入给药的有效的候选药物进行全面而深入的评价是必要的。

参考文献

1. Hinds, W. C. Aerosol Technology, Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles; 2nd Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999.
2. Wood, R. E.; Knowles, M. R. Recent Advances in Aerosol Therapy. J. Aerosol Med. 1994, 7 (1), 1—11.
3. Byron, P. R. Aerosol Formulation, Generation, and Delivery Using Nonmetered System. Respiratory Drug Delivery; Byron, P. R. Ed.; CRC Press, Inc.: Boca Raton, 1990, 143—165.
4. Patton, J. S.; Platz, R. M. (A) Routes of Delivery: Case Studies, (B) Pulmonary Delivery of Peptides and Proteins for Systemic Action. Adv. Drug Delivery Rev. 1992, 8, 179—196.
5. Gupta, P. K.; Adjei, A. L. Therapeutic Inhalation Aerosol. Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins; Adjie, A. L., Gupta, P. K. Eds.; Marcel Dekker,

Inc.; New York, 1997, 185—234.
6. Newman, S. P.; Forward. Inhalation Delivery of Therapeutic Peptides and Proteins; Adjie, A. L., Gupta, P. K. Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997, xi-xii.
7. Clark, A. R. Medical Aerosol Inhalers: Past, Present, and Future. Aerosol Sci. Technol. 1995, 22, 374—391.
8. Thiel, C. G.; From Susie's Question to CFC Free: AN Inventor's Perspective on Forty Years of MDI Development and Regulation. Respiratory Drug Delivery; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J. Eds.; Interpharm Press, 1996, 349—351.
9. Lefebvre, Arthur H. Basic Processes in Atomization. Atomization and Sprays; Hemisphere Publishing Co.: Washington, DC, 1989, 27.
10. Newman, S. P.; Pellow, P. G. D. Valuation of Jet Nebulizer. In Drug Delivery to the Respiratory Tract; Ganderton, D., Jones, T. Eds.; Ellis Horwood Ltd.: Chichester, England, 1987, 124—132.
11. Klusener, O. The Injection Process in Compressorless Diesel Engines. VDIZ 1933, 77 (7) .
12. Niven, RalphW. Atomization and Nebulizers. Inhalation Aerosols; Hickey, A. J. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996, 273-312.
13. Rizkalla, A. A.; Lefebvre, A. H.; Influence of Liquid Properties on Air-Blast Atomizer Spray Characteristics. ASME Gas Turbine Conference 1974, 1-5, Paper No. 74-GT-1.
14. Searls, E. M.; Snyder, F. M. Relation of Viscosity to Drop Sizes. J. Econ. Entomol. 1936, 29, 1167—1170.
15. Hinds, W. C.; Macher, J. M.; First, M. W. Size Distribution of Aerosols Produced by the Laskin Aerosol Generator Using Substitute Materials for DOP. Am. Ind. Hyg. Ass. J. 1983, 44, 495—500.
16. McCallion, Orla, N. M.; Taylor, Kevin, M. G.; Thomas, Marian; Taylor, Anthony, J. Nebulization of Fluids of Different Physicochemical Properties with Air-Jet and Ultrasonic Nebulizers. Pharm. Res. 1995, 12 (11), 1682—1688.
17. Clark, Andrew, R. The Use of Laser Diffraction for the Evaluation of the Aerosol Clouds Generated by Medical Nebulizers. Int. J. Pharm. 1995, 115, 69—78.
18. Davis, S. S. Physico-chemical Studies on Aerosol Solutions for Drug Delivery. I. Water-Propylene Glycol Systems. Int. J. Pharm. 1978, 1, 71—83.
19. Newman, S. P.; Pellow, P. G. D.; Clarke, S. W. Dropsizes from Medical Atomisers (Nebulizer) for Drug Solution with Different Viscosities and Surface Tensions. Atomization Spray Technol. 1987, 3, 1—11.
20. Phipps, Paul, R.; Gonda, Igor; Droplets Produced by Medical Nebulizers Some Factors Affecting Their Size and Solute Concentration. Chest 1990, 97 (6), 1327—1332.
21. Mercer, T. T.; Tillery, M. I.; Chow, H. Y. Operating Characteristics of Some Compressed-Air Nebulizers. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 1968, 29, 66—78.
22. Smye, S. W.; Jollie, M. I.; Cunliffe, H.; Littlewood, J. M. Measurement and Predication of Drug Solvent Losses by Evaporation from a Jet Nebuliser. Clin. Phys. Physiol. Meas. 1992, 13, 129—134.
23. Ferron, G. A.; Soderholm, S. C. Estimation of the Times for Evaporation of Pure Water Droplets and for Stabilization of Salt Solution Particles. J. Aerosol Sci. 1990, 21 , 415—429.
24. Newman, S. P.; Pellow, P. G. D.; Clay, M. M.; Clarke, S. W. Evaluation of Jet Nebulizers for Use with Gentamicin Solution. Thorax 1985, 40, 671—676.
25. Wood, J. A.; Wilson, R. S. E.; Bary, C. Changes in Salbutamol Concentration in the Reservoir Solution of a Jet Nebulizer. Br. J. Dis. Chest 1986, 80, 164—169.
26. May, K. R. The Collison Nebulizer: Description, Performance and Application. Aerosol Sci. 1973, 4, 235—243.
27. Everard, M. L.; Clark, A. R.; Milner, A. D. Drug Delivery from the Nebulisers. Arch. Dis. Childhood 1992, 67, 586—591.
28. Ding, J. Y.; Brooker, M. J.; Andre, J. C.; Zimlich, W. C.; Imondi, A. R.; Placke, M. E. Performance Evaluation of the Pari LC Nebulizer Using Different Nebulization Pressures. Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Serentec Press, Inc.: 2000, 349—351.
29. Finlay, W. H.; Stapleton, W. K.; Zuberbuhler, P. Variations in Predicted Regional Lung Deposition of Salbutamol Sulphate Between 19 Nebulizer Types. J. Aerosol Med. 1998, 11 (2), 65—80.
30. Ganderton, D. Targeted Delivery of Inhaled Drugs: Current Challenges and Future Goals. J. Aerosol Med. 1999, 12, S3—S8.
31. Stapleton, K. W.; Finlay, W. H.; Zuberbuhler, P. An In Vitro Method for Determining Regional Dosages Delivered by Jet Nebulizers. J. Aerosol Med. 1994, 7, 325—344.
32. Morén, F.; Aerosol Dosage Forms and Formulation. Aerosols in Medicine, Principle, Diagnosis and Therapy; Morén, F., Dolovich, M. B., Newhouse, M. T., Newman, S. P. Eds.; Elsevier Science Publisher: Amsterdam, 1993, 321—350.
33. Hickey, A. J.; Evans, R. M. Aerosol Generation from Propellant-Driven Metered Dose Inhalers. In Inhalation Aerosols; Hickey, A. J. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996, 417—439.

Y

34. Clark, A. R. MDIs: Physics of Aerosol Formulation. J. Aerosol Med. 1996, 9 (S1), s19—s26.
35. Edman, P. Pharmaceutical Formulations—Suspensions and Solutions. J. Aerosol Med. 1994, 7 (S1), s3—s6.
36. Hallworth, G. W. The Formulation and Evaluation of Pressurized Metered-Dose Inhalers. Drug Delivery to the Respiratory Tract; Jones, D. G. T. Ed.; Ellis Horwood, Ltd.: Chichester England, 1987, 87—118.
37. Byron, PeterR.; Aerosol Formulation, Generation, and Delivery Using Metered System. Respiratory Drug Delivery; Byron, P. R. Ed.; CRC Press, Inc. Boca Raton, 1990, 167—205.
38. Physical Tests and Determinations: k6011 Aerosols, The Official Compendia of Standards, USP 24 NF19; U. S. Pharmacopeia and National Formulary, 2000, 1895—1912.
39. Leach, C. Enhanced Drug Delivery through Reformulating MDIs with HFA Propellants—Drug Deposition and Its Effect on Preclinical and Clinical Programs. In Respiratory Drug Delivery V; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J. Eds.; Interpharm Press, 1996, 133—144.
40. Fink, J. B. Metered-dose Inhalers, Dry Powder Inhalers, and Transitions. Respir. Care 2000, 45 (6), 623—635.
41. Borgström, L.; Newman, S. Total and Regional Lung Deposition of Terbutaline Sulphate Inhaled via a Pressurised MDI or via Turbuhaler. Int. J. Pharm. 1993, 97, 47—53.
42. Sterk, P. J.; Plomp, A.; van de Vate, J. F.; Quanjer, P. H. Physical Properties of Aerosols Produced by Several Jetand Ultrasonic Nebulizers. Bull. Eur. Physiopathol. Respir. 1984, 20, 65—72.
43. Greenspan, B. J. Ultrasonic and Electrohydrodynamic Methods for Aerosol Generation. In Inhalation Aerosols; Hickey, A. J. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996, 313—335.
44. Lang, R. J. Ultrasonic Atomization of Liquids. J. Acoust. Soc. Am. 1962, 34, 6—8.
45. Hager, J.; Gober, K.-H.; Löhr, J.-P.; Dürr. Measurement of Particle and Mass Distribution of Pentamidine Aerosol by Ultrasonic and Air Jet Nebulizers. J. Aerosol Med. 1992, 5 (2), 65—79.
46. Everard, M. L. Aerosol Therapy Past, Present, and Future: A Clinician's Perspective. Respir. Care 2000, 45 (6), 769—776.
47. Coyne, T. C. Introduction to the CFC Problem. J. Aerosol Med. 1991, 4 (3), 175—180.
48. Kontny, M. J.; Destefand, G.; Jager, P. D.; McNamara, D. P.; Turi, J. S.; Van Campen, L. Issues Surrounding MDI Formulation Development with Non-CFC Propellants. J. Aerosol Med. 1991, 4 (3), 181—187.
49. Leach, C. L. Approaches and Challenges to Use Freon Propellant Replacements. Aerosol Sci. Technol. 1995, 22, 328—334.
50. Keller, M. Innovations and Perspectives of Metered Dose Inhalers in Pulmonary Drug Delivery. Int. J. Pharm. 1999, 186, 81—90.
51. Larsen, J. S.; Hahn, M.; Kochevar, J. W.; Morris, R. J.; Kasier, H. B.; Weisberg, S. C.; Halverson, P. C.; Quessey, S. N. Administration Errors with a Conventional Metered Dose Inhaler Versus a Novel Breath Actuated Device. Ann. All. 1993, 71, 103—106.
52. Epstein, S. E.; Manning, C. P.; Ashley, M. J. Corey, P. N.; Survey of the Clinical Use of Pressurized Aerosol Inhaler. Can. Med. Assoc. J. 1979, 120 (7), 813—816.
53. Newman, S. P.; Weisz, A. W. B.; Talaee, N.; Clarke, S. W. Improvement of Drug Delivery with a Breath Actuated Pressurised Aerosol for Patients with Poor Inhaler Technique. Thorax 1991, 46, 712—716.
54. Zierenberg, B. Optimizing the In Vitro Performance of Respimat. J. Aerosol. Med. 1999, 12, s19—s24.
55. Newman, S. P. Use of Gamma Scintigraphy to Evaluate the Performance of New Inhalers. J. Aerosol. Med. 1999, 12, s25—s31.
56. Steed, K. P.; Towse, L. J.; Freund, B.; Newman, S. P. Lung and Oropharyngeal Depositions of Fenoterol Hydrobromide Delivered from the Prototype III Handheld Multidose Respimat Nebuliser. Eur. J. Pharm. Sci. 1997, 5, 55—61.
57. Newman, S. P.; Steed, K. P.; Reader, S. J.; Hopper, G.; Zierenberg, B. Efficient Delivery to the Lungs of Flunisolide from a New Portable Hand-held Multidose Nebuliser. J. Pharm. Sci. 1996, 85, 960—964.
58. Newman, S. P.; Brown, J.; Steed, K. P.; Reader, S. J.; Kladders, H.; Lung Deposition of Fenoterol and Flunisolide Delivered Using a Novel Device for Inhaled Medications. Chest 1998, 113, 957—963.
59. Smaldone, G. C. Enhanced In-Vitro Delivery of Budesonide via Continuous and Breath-Activated Nebulization; European Respiratory Society, Florence Italy, Aug. 30 — Sep. 3, 2000.
60. Blacker, R.; Morton, R. W.; Mitchell, J. P.; Nagel, M. W.; Hess, D. R. The Effect of Small Volume Nebulizer (SVN) Design on Fine Particle Mass Delivery of a Bronchodilator Present at Drug Delivery to the Lungs, London, UK, Dec., 1999.
61. Schuster, J. A.; Farr, S. J.; Cipolla, D.; Wilnbanks, T.; Rosell, J.; Lloyd, P.; Gonda, I. Design and Performance

Validation of a Highly Efficient and Reproducible Compact Aerosol Delivery System: AERx™. In Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J. Eds.; Interpharm Press, 1998, 83—90.

62. Dolovich, M. New Propellant-Free Technologies under Investigation. J. Aerosol Med. 1999, s9—s17.
63. Schuster, J.; Rubsamen, R. M.; Lloyd, P.; Lloyd, J. The AERx™ Aerosol Delivery System. Pharma. Res. 1997, 14, 354—357.
64. Farr, S. J.; Warren, S. J.; Lloyd, P.; Okikawa, J. K.; Schuster, J. A.; Rowe, A. M.; Rubsamen, R. M.; Taylor, G. Comparison of In Vitro and In Vivo Efficiencies of a Novel Unit-Dose Liquid Aerosol Generator and a Pressurized Metered Dose Inhaler. Int. J. Pharm. 2000, 198, 63—70.
65. Farr, S. J.; Schuster, J. A.; Lloyd, P.; Lloyd, L. J.; Okikawa, J. K.; Rubsamen, R. M. AERx™—Development of a Novel Liquid Aerosol Delivery System: Concept to Clinic. In Respiratory Drug Delivery V; Byron, P. R., Dalby, R. N., Farr, S. J. Eds.; Interpharm Press: , 1996, 175—185.
66. Cipolla, D.; Boyd, B.; Evans, R.; Warren, S.; Taylor, G.; Farr, S. J. Bolus Administration of INS365 Studying the Feasibility of Delivering High Dose Drugs Using the AERx™ Pulmonary Delivery System. In Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 2000, 231—239.
67. Chan, H. K.; Daciskas, E.; Eberl, S.; Robinson, M.; Bautovich, G.; Young, I. Deposition of Aqueous Aerosol of Technetium-99m Diethylene Triamine Penta-Acetic Acid Generated and Delivered by a Novel System (AERxTM) in Healthy Subjects. Eur. J. Nuclear Med. 1999, 26, 320—327.
68. Denyer, J. Adaptive Aerosol Delivery in Practice. Eur. Respir. Rev. 1997, 7, 388—389.
69. Denyer, J.; Nikander, K.; Halolite, T. M. A Novel Liquid Drug Aerosol Delivery System. Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 1998, 311—314.
70. De Young, L. R.; Chamber, F.; Narayan, S.; Wu, C. The AeroDose Multidose Inhaler Device Design and Delivery Characteristics. In Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 1998, 91—95.
71. De Young, L. R.; Chamber, F.; Narayan, S.; Wu, C. Albuterol Sulphate Delivery from the AeroDose Liquid Inhaler. In Respiratory Drug Delivery VI; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 1998, 315—318.
72. Hirst, P. H.; Bacon, R. E.; Newman, S. P.; Armer, T.; Mohsen, N.; Pavkov, R.; Byron, D. Deposition, Absorption and Bioavailability of Aerosolized Morphine Sulfate Delivered by a Novel Hand-held Device, The Metered Solution Inhaler (MSI) . In Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 2000, 467—469.
73. van der Linden, K.; Haack, O.; Ruttel, M. US Patent, 5, 950, 619.
74. Stangl, R.; Luangkhot, N.; Liening-Ewert, R.; Jahn, D. Characterising the First Prototype of a Vibrating Membrane Nebuliser. In Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 2000, 455—458.
75. Stangl, R.; Luangkhot, N.; Liening-Ewert, R.; Jahn, D. Characterising the Functional Model of a Vibrating Membrane Nebuliser. Drug Delivery to the Lungs; Aerosol Society: London, 1999.
76. Cloupeau, M.; Prunet-Foch, B. Electrostatic Spraying of Liquids in Cone-jet Mode. J. Electronics 1989, 22, 135—159.
77. Gomez, A.; Bingham, L. de Juan; Tang, K. Production of Protein Nanoparticles by Electrospray Drying. J. Aerosol Sci. 1998, 29, 561—574.
78. Zimlich, W. C.; Ding, J. Y.; Busick, D. R.; Moutvic, R. R.; Placke, M. E.; Hirst, P. H.; Pitcairn, G. R.; Malik, S.; Newman, S. P.; Macintyre, F.; Miller, P. R.; Shepherd, M. T.; Lukas, T. M. The Development of a Novel Electrohydrodynamic Pulmonary Drug Delivery Device. In Respiratory Drug Delivery VII; Dalby, R. N., Byron, P. R., Farr, S. J., Peart, J. Eds.; Interpharm Press, 2000, 241—246.

（陈桂良 译）

Y

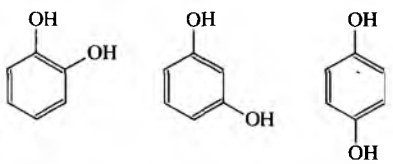
异构现象

Thomas N. Riley
Jack DeRuiter
William R. Ravis
C. Randall Clark
Auburn University, Auburn, Alabama, U. S. A.

基本原理

异构体定义为分子有完全相同的元素组成（分子式），但是具有不同的化学键或是元素具有不同的空间位置。根据这个定义，异构体现象可以分成以下几种类型：结构异构、立体构型异构和构象异构。

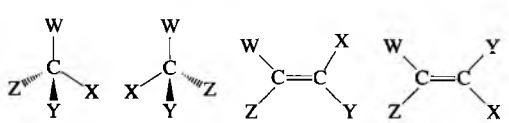
结构异构体（也称位置异构）是指分子具有相同的元素组成，但是元素之间的化学键具有不同的排列方式，我们以邻苯二酚、间苯二酚和对苯二酚为例予以说明（图 1）。所有的这些化合物都具有相同的元素组成（$C_6H_6O_2$），可是它们的元素间的化学键排列不同，因此具有明显不同的化学和物理性质。



邻苯二酚（儿茶酚） 间苯二酚（雷琐酚） 对苯二酚（氢醌）

图 1 结构异构体

立体构型异构现象指分子具有完全相同的元素组成和完全相同的化学键排列方式，但是元素的空间位置不同，并且这些不同元素的位置不能通过化学键的翻转而自由地相互转化。因此这种类型的异构现象只是相关元素的空间位置不同，它们通常被称为立体异构现象。立体异构现象又分为光学异构和几何异构（图 2），取决于原子杂化状态和几何形状，影响立体异构体的性质和总的分子结构。这一类的立体异构体是明显不同的化学个体，而这些化学个体有可能有不同的化学和物理性质。



光学导构体（对映体） 几何异构体

图 2 立体异构体

构象异构体（conformer）的特征是由于 σ 键旋转而导致了不同的空间原子排列。所以，和立体异构不同，构象异构体是一个单一化合物立体化学形式的互变。构象异构和立体异构和性质，以及立体异构在药物活性中的作用是本章的主要内容。

1. 光学活性和分子结构

马吕斯（Malus）在 1808 年的研究中发现当一束光通过碳酸钙时，产生了平面偏振光，这就是现代立体化学起源。1813 年，矿物学家 Biot 报道说，不对称切割的石英晶体能够使一束平面光偏转（旋转）。有人注意到一些有机液体和某些有机化合物的溶液，能够使平面光发生偏转。Biot 把这种平面光偏转作用归为个别光透过的有机分子的性质，现在我把这种性质称为光学活性。光学活性的概念到 1812 年由 Hersche 延伸，他发现半面石英晶体有奇数个面倾向于一个方向，能把平面偏振光旋转到一个方向，但是奇数个面倾向于相反方向的石英晶体能把平面偏振光旋转到相同的程度，但方向相反。

巴斯德（Paster）研究了矿物学家的观察结果后，提出在光学活性和分子结构之间存在一定的联系。在 1847 年，他基于 Biot 早些年的观察发现化学结构相同的酒石酸盐产生出不同的偏振光，这是具有划时代意义的工作。巴斯德发现，从不产生旋光现象的酒石酸（外消旋酒石酸）溶液中可以得到两种完全不同的酒石酸结晶型式，并且发现，一种结晶型式具有半表面偏向右侧，而另一种结晶型式则偏向左侧。他分离了两种不同的结晶型式，观察发现，和原来消旋酒石酸不同，两个晶型都具有光学活性。左旋晶体的溶液能使平面偏振光向右侧偏转，而右旋晶体的溶液能使平面偏振光相同程度地向相反方向偏转。巴斯德进一步发现左旋和右旋互相成镜像，并且认为这种性质一定反映出了组成晶型的分子的手性关系。

相同的化学物质的不同晶型的左旋或是右旋以及在旋光性中的差异的分子化学基础，是从 Paterno 和 Kekulé 的一个碳原子和四个化学键结合形成一四面体的几何学假设中发展来的。根据四面体几何学的概念，van't Hoff 和 LeBel 得出一个结论：当具四个不同基团的原子和一个碳原子成键时，有可能形成两个不同的四面体分子形式，并且这两个分子是无法重叠的互相成镜像的关系（图 3）。就是上述的假设，把分子的三维空间结构和光学活性联系起来，同时，这个假设也是立体异构现象和立体化学的基础。

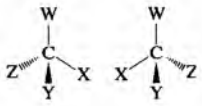


图 3 四面体几何和光学异构体

2. 手性和光学异构体（对映异构体）

不能相互重叠的性质称为手性，含有不对称取代的碳原子的分子称作手性分子。手性这个术语源自希腊文字："手"，现在这个词用来描述由于不对称分子导致的左旋或是右旋的晶型结构。手性分子中的单个镜像形式被称为光学异构体，因为它们能使平面偏振光发生偏转（具有光学活性），并且结构上仅仅是由于不对称碳原子上原子和基团的位置不同（异构体）。今天，光学异构体更普遍地称为对映异构体和对映异构体对。

总的来说，光学异构体或是对映异构体具有完全相同的物理和化学性质，例如，安非他明（图 4）的对映异构体具有相同的熔点、pK_a、溶解度等。但是在两个对映异构体之间也存在明显不同的性质：两个化合物都能使平面光发生相同程度的偏转，但是方向相反；将平面光向右偏转（顺时针）的定为右旋的（D）或者是（+）异构体，相对应的另一个异构体把偏振光转向左侧（逆时针）的定为左旋（L）或者是（−）异构体。我们用图 4 中的安非他命对映异构体进行说明，其中一个单体的比旋度为+21.8°，被定为右旋体，而它的镜像异构体的比旋度为−21.8°，称为左旋体。对映异构体间的另一个区别是它们和其他手性化合物间的相互作用不同。例如，在手性溶剂中，对映异构体具有不同的溶解度，当遇到手性试剂或是酶时它们进行反应的速率可能不同，对手性表面和受体表现出不同的亲和力。

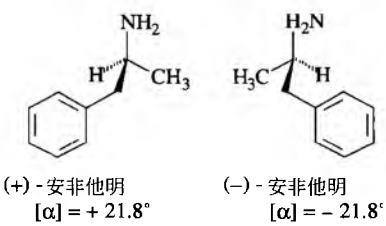


图 4 安非他明对映体

大多数具有光学活性的药物是手性的，因为存在不对称取代的四面体中心碳原子。然而，分子中其他的不对称取代原子也可以引起手性，如磷（图 5）、氮（图 6）、硫（图 7）。

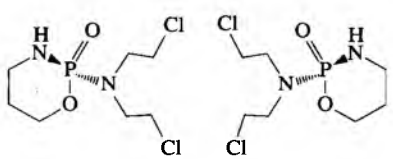


图 5 环磷酰胺光学异构体

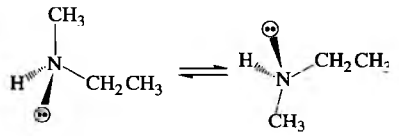


图 6 不对称氮的锥体反转

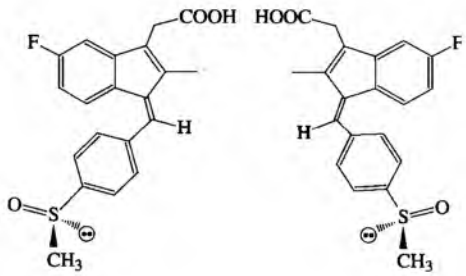


图 7 不对称的舒林酸亚砜

3. 定义和命名

前面部分已经讨论过，对映体对的偏振光度数相同，而方向相反（右旋体和左旋体），但是，单个对映体的旋光度数值并非固定，而是由溶剂性质、溶液浓度、温度、所用光波长、所用旋光管长度决定的。所以，只有在特定条件下测定光学活性，对手性化合物的光学旋光度进行比较才是有意义的。该条件称为比旋度 $[\alpha]$，用式（1）和式（2）分别表示溶液和纯液体的 $[\alpha]$：

$$[\alpha]_\lambda^t = \frac{100\alpha}{l \cdot c} \tag{1}$$

$$[\alpha]_\lambda^t = \frac{\alpha}{l \cdot d} \tag{2}$$

式中：α 为测得的旋光度；t 为温度；λ 为波长；c 为溶液浓度；d 为密度；l 为旋光管长度。

比旋度数据有助于鉴定特定对映体，或用于测定对映体混合物的光学纯度（对映体纯度）。光学纯度定义为混合物中，一种对映体超过另一种的百分比，见式（3）：

$$\text{光学纯度} = \frac{[\text{d}]-[\text{l}]}{[\text{d}]+[\text{l}]} \frac{\alpha_{\text{obs}}}{\alpha_0} \tag{3}$$

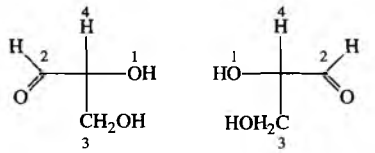
根据式（3），含相同量对映体的混合物无净旋光。一种对映体的旋光被另一种对映体所抵消，这样的混合物称为消旋体。

在讨论光学活性化合物时，还应用了其他一些常用术语，包括拆分和消旋化。拆分指的是将消旋体分成单一对映体的过程，消旋化指的是由对映体转变为外消旋体的过程。

在过去的几年内，发展了一些命名系统以描述对映体之间的关系。已经介绍过以光学活性将对映体分成左旋右旋的系统。然而这种命名体系有其应用的局限性，因为旋光符号（+）、（−）并不能预测对映体的绝对构型或是原子的相对空间排列。为了指明不对称碳中心的准确构型，发展了 Cahn-Ingold-Prelog R/S 系统，且已成为异构体中应用最为广泛的命名体系。

Y

在 Cahn-Ingold-Prelog *R*/*S* 体系中，化合物以 Fisher 投影式定位，连接在不对称碳原子上的四个基团或原子按以下规则排序（图 8）：



S-甘油醛　　*R*-甘油醛

图 8　Cahn-Ingold-Prelog 排序规则

①取代基按直接连在手性 C 上的原子的原子序数大小排成 1～4；

②若一个手性 C 上连有 2 个或 2 个以上相同的原子，则次序地比较第二个原子，若亦同时有 2 个或 2 个以上的相同原子连接于第二个原子上，则第三个原子决定优先权，以此类推；

③除了 H，所有的原子均统一给定化合价为 4，若实际化合价（如 N、O）低于 4，则分配给原子序数为 0 的虚拟原子，次序最低；

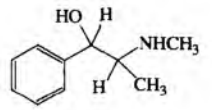
④氚原子优先于氘，氘优先于氢，同样的，高原子量同位素优先于低原子量同位素；

⑤手性 C 上连有双键或三键按 2 或 3 个单键相连计数比较。所以，CC 看作是一个 C 与 2 个 C 相连，CO 看作是一个 C 与 2 个 O 相连。

连接于手性 C 原子的 4 个基团确定次序后，将次序最后的基团（4）放在离观察者最远的方向，如果其他基团（1～3）由大到小按顺时针排列，则该手性 C 原子的构型为 R（rectus）构型，反之，若为逆时针则定义该手性 C 原子的构型为 S（sinister）构型。图 8 就是应用上述规则确定了甘油醛对映体的绝对构型。根据规则①，最高优先取代基团（1）为—OH，最低优先基团（4）为—H。因为 C 的原子序数高于 H，低于 O，两个取代基 CHO 与 CH_2OH 确定为中等优先。为了确定这 2 个 C 取代基的相对优先情况，必须应用规则②和⑤。醛基碳为羰基（C═O）的一部分，根据规则⑤，相当于一个碳原子连接两个氧原子。乙醛基上的“两个 O”优先权高于乙醇基中的 1 个 O，故—CHO 排序为 2，$—CH_2OH$ 为 3。当所有的取代基排序完毕，将最低优先权（4）基团距离观察者最远，构型得以确定。对映体取代基由大到小按顺时针排列为 *R* 型，反之逆时针即为 *S* 形。

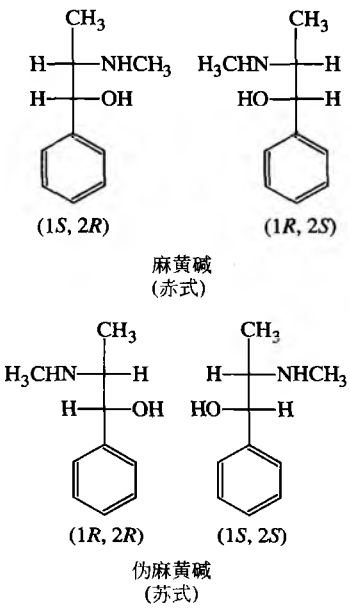
4. 含多不对称中心的化合物

许多立体异构药物含有不止一个不对称取代原子。例如，麻黄素含有 2 个手性中心（图 9），在这种情况下，可能会有很多数量的构型异构体：最大个数为 2^n，*n* 为手性原子的数目。因此，麻黄素可能的构型异构体数目最多为 4，分别为 *RR*、*SS*、*RS* 和 *SR*（图 10）。*RS* 和 *SR* 异构体是非重叠镜像，因此是对映体。*RR* 和 *SS* 异构体也存在同样的关系。对映体对中的任一种和另外一对对映体的任一种单体均为非对映体，为非重叠非镜像。因此，*RS* 异构体是 *RR* 和 *SS* 异构体的非对映体，*SS* 异构体是 *SR* 和 *RS* 异构体的非对映体。对于麻黄素，*SR* 和 *RS* 对映体称为麻黄素，而 *RR* 和 *SS* 对映体称为伪麻黄碱。和对应异构体不同，非对应异构体有许多理化性质不同，包括溶解度、酸碱强度、溶点等。



麻黄碱

图 9　麻黄碱有多个不对称中心



麻黄碱
(赤式)

伪麻黄碱
(苏式)

图 10　麻黄碱和伪麻黄碱立体异构体

除了定义为 *R* 型和 *S* 形两种，带有两个手性中心的化合物可以用立体化学命名法来描述整个系统。例如，来自于碳水化合物的两个命名术语“赤式”和“苏式”可以引进来描述每个手性碳原子上相似集团的相互关系。于是，麻黄素被指定为赤式，因为它的相似基团（—OH、$—NHCH_3$）在它 Fischer 投影式竖轴的同侧，而伪麻黄素被指定为苏式，因为它的相似的基团（—OH、$—NHCH_3$）在它 Fischer 投影式竖轴的异侧（图 10）。

要注意 2^n 规则只是预测了当超过一个手性中心时化合物最大可能的立体异构体数量。例如，一些具有两个不对称碳原子的化合物仅仅有三个立体异构体。当一个不对称碳原子的三个取代基和另一个不对称碳原子的三个取代基相同时，才出现这种情况，如图 11 所示的抗结核药乙胺丁醇。在这种情况下，一个立体异构体有一个对称平面，即使存在两个不对称的碳原子。这样的异构体称为内消旋化合物，没有旋光性。因此，当一个具有两个手性中心的立体异构体有一个对称平面时，仅仅有三个立体异构体存在。

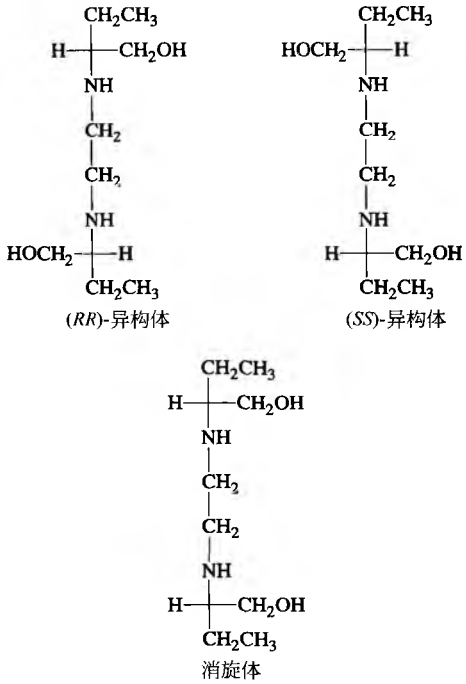


图 11 乙胺丁醇立体异构体

5. 几何异构

几何异构体最早是 1887 年由 Wislicenus 定义的转动受到限制的双键和环系统的异构体。几何异构体不能使平面偏振光旋转，除非它还有一个手性的中心，因此没有旋光性。

5.1 几何异构体产生的原因是因为双键限制了分子转动性

sp^2 杂化的烯烃碳原子、以及和碳原子相连的原子都处于同一个平面，双键限制了分子转动性。因此当双键上碳原子被不对称取代时，就产生了立体异构体。因为几何异构体是非重叠非镜像的，它们被归类为非对映异构体，因此具有不同的物理和化学性质。很多的药物包含有非对称取代的碳-碳双键，因此存在两个不同的几何异构体，如图 12 所示。

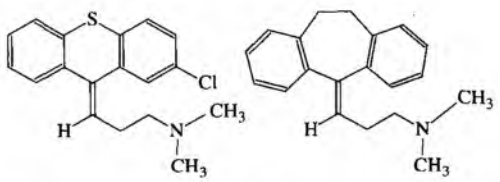


图 12 药理活性的不对称取代烯烃

有几个命名体系用来指定几何异构体的构型。历史上，最常用的是用顺-反命名法。当每个异构体的双键的两个碳上有一个相似的原子或基团时，它能用于指定几何异构体的构型。然而，在更复杂的结构中，这个命名系统很难准确地描述出每个几何异构体的构型。比如说，含有 sp^2 杂化的原子的抗精神病激动剂药物甲哌硫丙硫蒽并没有含有这样一个原子或是基团（图 13）。因此，人们建立了 *E*/*Z* 命名系统对所有的几何异构体进行准确命名。

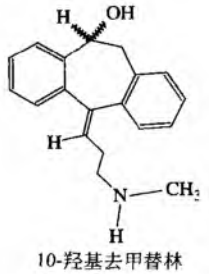


图 13 几何异构体命名——氨砜噻吨

（1）连接同一侧的基团和原子的优先顺序是根据原子序数进行排序的。在优先权相同的情况下，则根据 Cahn-Ingold-Prelog 排序法则进行排序；

（2）构型取决于连接在一个碳-碳双键上的最高优先权原子或是基团的相对位置。如果这些基团在同一侧，则为 *Z*（zusammen 同侧）构型，如果它们不在同一侧，那么为 *E*（entegen）构型。

几何异构也可能发生在碳和杂原子形成的双键系统中，例如亚胺、肟（CN）以及其他氮-氮双键系统。例如，很多头孢衍生物含有以 *E* 或者 *Z* 异构体形式存在的烷氧氨基侧链。含氮化合物百浪多息就会表现出相类似的异构现象（图 14）。顺-反命名系统也可以应用于碳氮几何异构体的命名。在这些情况中，优先权的认定方式和前面讲的没有区别，优先权大的基团在双键同一侧的称为顺式构型，相反，

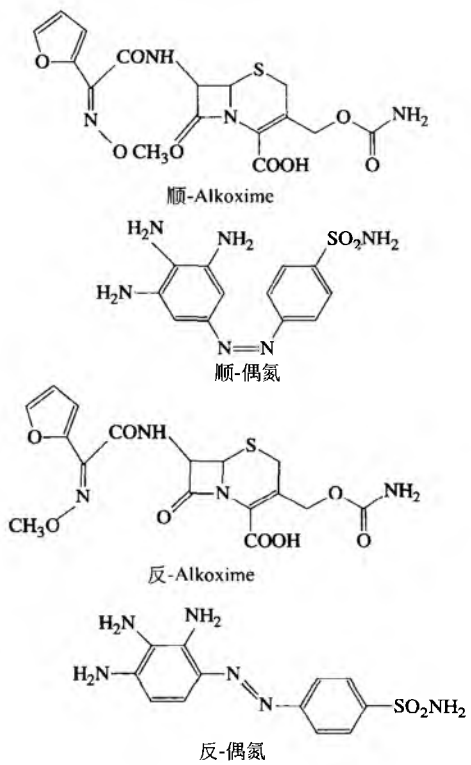


图 14 碳杂原子双键的几何异构

优先基团在异侧的情况被称为反式。

在很多酰胺、硫代酰胺和一些相关系统中，单键的旋转受到阻碍，我们能观察到甚至是分离出这些不同的几何异构体。这种几何异构体被称为位阻异构体，它的形成主要是由于氮原子共振赋予系统双键的性质，因此，旋转减慢。这种情况主要有硫代酰醛糖还原酶抑制剂托瑞司他，见图 15。这种异构体也称为旋转异构体，因为是由于单键旋转引起的异构，也属于结构异构。

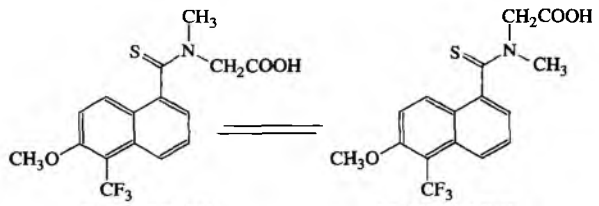


图 15 托瑞司他

5.2 环状化合物的几何异构

由于环系统的存在，无论是碳环，还是杂原子环，都会像双键一样阻碍旋转，因此，当环的两个碳原子被不同的取代基取代时，也会产生几何异构现象。图 16 中列举了一些具有重要药理活性的几何异构体。

我们用甾体环的例子（图 16）来说明当环通过相邻的原子进行杂合时，反式和顺式的确定。自然形成的甾体环的连接部位都是顺式的，除了强心苷甾体环，A/B 和 C/D 连接均为反式的。当环通过不相邻的原子进行环合或者桥环系统时，也可能呈现出立体异构现象。

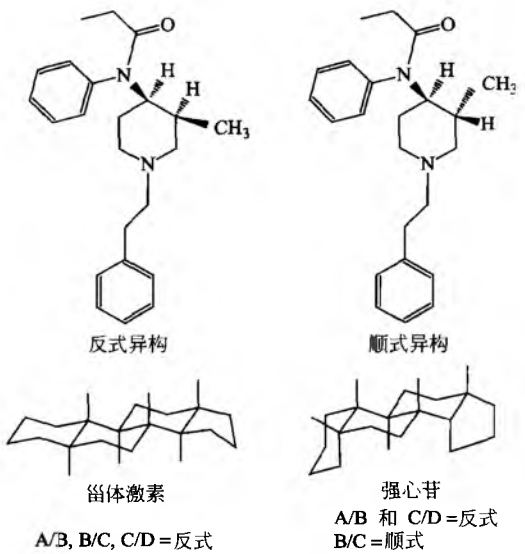


图 16 药物环结构中的几何异构体

6. 构象异构现象

前面的部分我们讨论了立体异构现象（光学异构和几何异构）的性质和定义。理解立体异构体是完全不同的、可以分离的化合物是非常重要的。构象异构体为单一化合物或者是立体异构体在三维空间的不同排布。这种异构体称为构象异构体，通过单键的自由旋转可以互变异构。

在烷类化合物和烷基系统中，由于碳-碳单键自由旋转的结果，有无数个构象，每一个构象都有一个确定的势能。在这些系统中，有两个构象的极端：一个是最低势能（键取代基之间相互作用力最小）；另一个是最大势能（空间相互作用最大）。图 17 表示的是 Newman 投影式。一种更新的构象异构体命名系统源于与 C—C 单键旋转相关的能垒，如图 18 所示。在这种情况下，最稳定的构象异构体是反叠式异构体，这时两个基团（X 和 Y）之间的距离最大，因此有最小的空间效应。最不稳定的构象异构体是完全重叠的异构体，这时两个基团的距离最小。其他的构象异构体，对向倾斜的、临位交叉的，势能处于两者中间。

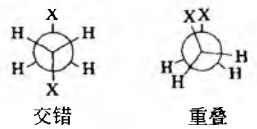


图 17 交错和重叠排列的 Newmen 投影式

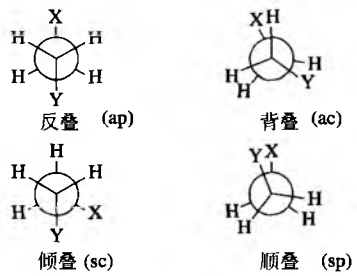


图 18 构象异构体

构象异构被认为对于药物受体和药物酶的相互作用有重要意义。例如，实验数据显示儿茶酚胺类药物，例如，去甲肾上腺素和多巴胺，是以其反叠构象与受体相互作用。此外，优先的毒蕈碱受体部分的乙酰胆碱的构型是倾斜式的构象（图 19）。

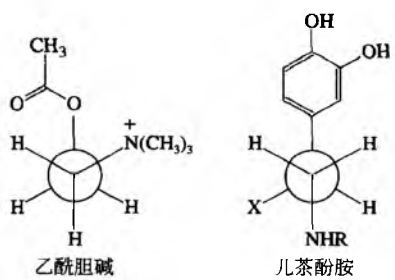


图 19 乙酰胆碱和儿茶酚胺的药理构象

构象异构现象在环炔和环烯结构中表现为有多个构象极端。例如，环己烷系统中存在三种不同构象：船式、扭船式、椅式。在这三种构象中，椅式构象是最稳定的，因

为空间效应最小（图 20）。在环异构体上的取代基，根据其在平面碳环上投影的方向不同，可以分为轴式的、赤道式的。取代基投影直接在环上或向下是轴式的，取代基在环同一平面内的是赤道式的，由于环烷烃类构象的灵活性，如环己烷，环的构象可以进行转化。在转化时，所有的轴式取代基变成赤道式的，所有的赤道式取代基变成轴式的。

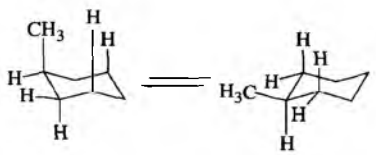


图 20　环烷烃的构象异构

环的构象被认为对药物的活性具有重要的影响，例如，实验数据显示，止痛类药物 3-甲基芬太尼如图 21 所示的构象优先与阿片受体结合，这个构象大量的取代基都处于赤道式位置，此种构象最为稳定。

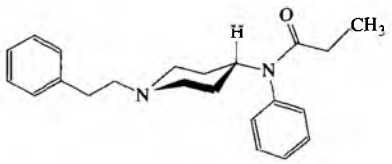


图 21　3-甲基芬太尼的构象异构体

异构现象的药理学

1. 背景和定义[1,2]

药物分子和作用靶点之间的结构及立体互补性是产生药理效应的基本条件。对有机药物的立体互补要求反映了生物体系包含立体异构体的蛋白质、氨基酸、脂质、糖类、核苷酸等的内在不对称性。生物体系内分子的不对称性最初是在 19 世纪 80 年代由巴斯德证实的。随后，在 1908 年 Cushney 基于不对称性药物受体解释了肾上腺素对映体在药理方面的差异性。1933 年，Easson 和 Stedman 根据每个对映体相互作用的数量的最优性，提出了拟交感胺对肾上腺素能受体的立体专一性的分子基础模型。活性较高 *R*-（－）肾上腺素异构体与受体可以产生三点的受体相互作用，活性较低（*S*)-（＋）对映体和它的非手性脱氧类似物多巴胺只能达到两点相互作用（图 22）。Easson-Stedman 对药物作用立体异构现象的描述为相当简单化的近似，这种理论促进了化学和药理学协调研究药效立体选择性现象。Pfeiffer 规则试图将药物立体选择性定量化，此规则为：对映体药物，外消旋体的活性越高，活性对映体的比率越高。药物作用立体选择性的定量化是一种优劣比分析技术，这种技术广泛用于研究对映体的药物作用。在一个优劣比分析中，高活性的对映体（如高亲和力受体）称为优性异构体，而它对应的低活性对映体（如相对的低亲和力受体）称为劣性异构体。对映体的立体选择性药理作用可以定量表示为特定药理学活性比率，称为优劣比［式（4)］。优劣比的对数称为优劣比指数［式（5)］。

$$\text{优劣比（ER）} = \text{Aff}_{eu} + \text{Aff}_{dis} \quad (4)$$

$$\text{优劣比指数（EI）} = \log(\text{Aff}_{eu} + \text{Aff}_{dis}) \quad (5)$$

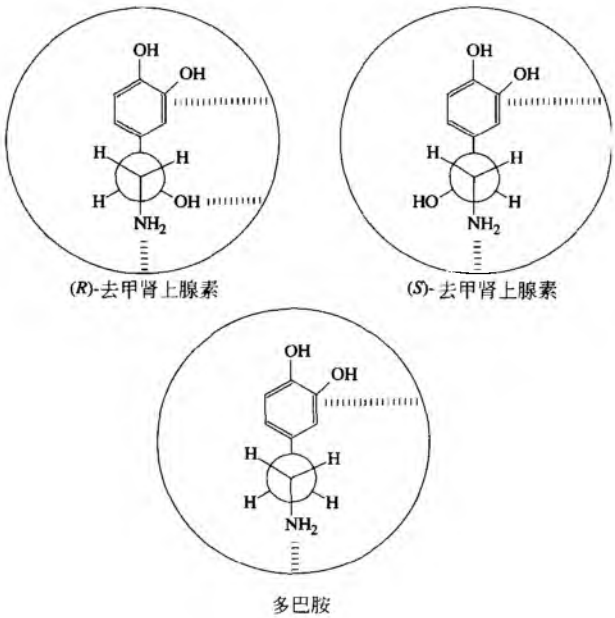


图 22　立体异构药物作用的 Easson-Stedman 假说

2. 药物作用的空间方面[3~7]

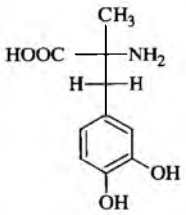
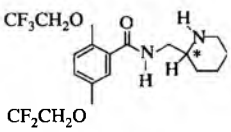
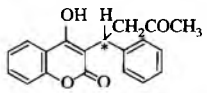
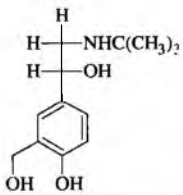
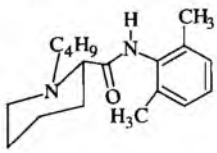
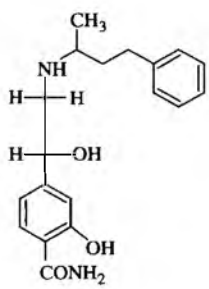
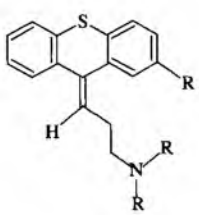
据估计，全球现存的药物中大约一半存在立体异构体。然而，仅仅一半的立体异构体药物作为单体上市，并且大部分单体是天然产物或有机半合成药物。由于对映体在手性生命体系中表现不同导致临床结果具有明显差异，人们逐渐意识到药物立体选择性具有重要的临床作用。表 1 列出了这种差异的例子。

以上的例子表明了手性对药理活性的各种影响。表 1 同时说明包括抗精神病药硫杂蒽衍生物的几何异构体在内及其他类型立体异构体对药理作用的影响性。（*Z*)-硫杂蒽的优性异构体关系归因于这种构型与它的天然多巴胺受体有更好的构型互补性。钙通道阻滞剂 1，4-二氢吡啶类药物的构象和立体构型对其药理作用有重要的影响。非对称的 C_3 和 C_5 酯取代导致部分衍生物产生 C_4 手性，它对钙通道功能产生了副作用。此外，有人提出二氢吡啶船形构象促进了这一类钙通道阻滞剂的活性。

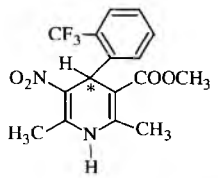
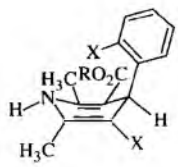
因此，很显然立体异构体的影响与结构的影响一样，对于药物产生药理作用具有很大的影响。与三维结构相关的药物分子的体外变化使药物与靶点结合过程中产生了最初的立体选择性。与立体化学影响相关的体内变化反映了药物在作用位点和体内生物处置各阶段的选择性相互作用。

Y

表 1 药物作用的立体选择性

药物	结构式	使用
(*R*)-和 (*S*)-α-甲基多巴		只有 *S* 异构体有药理活性，只为只有 *S* 异构体能立体选择性地生物活化为 (1*R*，2*S*)-α-甲基-去甲肾上腺素，一种突触前的拟交感神经药抗高血压药
(*R*)-和 (*S*)-氟卡尼		不具备立体选择性药理活性的例子。氟卡尼在犬心肌膜的可兴奋组织的优劣比约为 1.0
(*R*)-和 (*S*)-华法林		华法林的抗凝活性为药物立体选择性作用的经典例子。(*S*)-华法林体外抗凝活性比 (*R*)-对映体高 2～10 倍。这种药效上的差异因体内恰好 2～5 倍的血浆清除率差异而抵消
(*R*)-和 (*S*)-沙丁胺醇		(*S*)-沙丁胺醇能对抗优性异构体的支气管舒张作用，(*R*)-沙丁胺醇会引起矛盾性支气管痉挛和引发严重的消旋沙丁胺醇的类反应素反应
(*R*)-和 (*S*)-布比卡因		布比卡因在局部镇痛活性、CNS 和心肌毒性及药动学方面显示立体选择性。(*R*)-布比卡因药效更强，毒性也更强，清除比 (S)-异构体也更快
拉贝洛尔立体异构体		这些异构体为药理效应不同但互补的例子，立体异构体共同发挥治疗作用。(*R*，*R*)-拉贝洛尔为选择性的 β-交感神经阻滞药，而 (*S*，*R*)-异构体为 α_1-抗肾上腺素的优性异构体
抗精神病药物硫杂蒽		(*Z*)-方向的丙胺侧链增强了多巴胺受体部位对药物的识别

续表

药物	结构式	使用
二氢吡啶衍生物	 (*S*)：Ca^{2+}-通道激动剂 (*R*)：Ca^{2+}-通道阻断剂 	C_3 和 C_5 的不对称酯取代导致二氢吡啶 C_4 的手性。手性二氢吡啶的光学异构体的结构会产生不同的药理作用。此外，二氢吡啶的“船式”构象可以促进该类药物的钙通道阻滞活性

药动学的立体化学方面

体内的生物大分子能够辨别药物的两个异构体，从而导致药物在组织蛋白结合、生物转化和肾脏排泄方面立体选择性不同。立体异构体细微的空间结构的不同能对药物与蛋白质或酶系统的结合和相互作用造成显著的影响。当药物与生物大分子和酶系统相互作用和结合时，立体异构体药物通常在药代动力学的过程和途径中表现出立体选择性。此外，由于它们在溶解性和分配上的差异性，非对映体比对映体表现出更高的立体选择性。既然对映体有相同的溶解度和分配特性，它们的药动学方面的立体选择性预期存在于更多的结构特异性过程中，如膜转运、生物转化、蛋白质和组织结合。

1. 药物吸收

因为两个对映体的分配和溶解度等物理性质相同，它们具有相似的被动胃肠吸收。药物的透皮吸收表现出非立体异构特性，如酮洛芬[8]。

在结构上与内源性物质和营养素类似的立体异构体表现出不同的胃肠道黏膜渗透速率和生物利用度。被氨基酸转运系统吸收的 L-多巴通过胃肠壁的速率是 D-对映体的 4～5倍[9]。L-氨基蝶呤在胃肠道中通过主动吸收，然而 D-对映体通过被动吸收。另一个对映体胃肠吸收的例子是头孢菌素Ⅳ的立体选择性吸收和肠内生物转化[10]。

除立体特异性的膜渗透外，还存在着药物立体选择性和剂型的潜在影响。外消旋体的晶型不同于单个异构体的晶体结构，这也许是外消旋体和单一异构体剂型溶解速率不同原因。就处方而论，手性固体剂型的辅料如纤维素衍生物和药物的立体选择性相互作用，可能会改变立体异构体的溶解速率。进一步研究辅料和剂型对手性药物溶解度的影响是必须的。

2. 药物分布

体内手性大分子和立体异构体相互作用的广度和深度是异构体药物分布明显不同的原因。当组织或蛋白质的结合或吸收与结构特异性受体、蛋白质或酶相关时，药物分布的立体选择性可能发生。因为只有未结合的或游离的药物易于被清除或分布到受体、其他组织和体液，总的药动学数据反映了立体异构体的蛋白质和组织结合的差异。

分离的人血白蛋白和 α_1-酸糖蛋白的立体选择性相互影响，可以用多种蛋白质结合技术观察。一个异构体与血浆蛋白的相互作用产生一个非立体异构的结合。(*S*)-华法林比 *R* 对映体有更广的结合白蛋白的能力[11]。α_1-酸糖蛋白结合 (*S*) -普萘洛尔 (87.3%) 的能力稍微高于 (*R*) -普萘洛尔 (83.3%)，然而，人血白蛋白结合 (*R*)-普萘洛尔的能力要比 *S* 对映体强很多[12]。

异构体结合程度的差异可以很容易地通过血浆中游离部分的比率来观察；这个比值可达到 3 倍 (表 2)。认识到血浆蛋白结合影响药物的分布和清除，立体异构体不同的血浆蛋白结合可能导致对同分异构体的药动学的曲解，除非考虑异构体的蛋白质结合。

表 2　立体选择性生物分布

参数	异构体	华法林	布洛芬[1)]	丙吡胺[2)]	普萘洛尔[3)]	维拉帕米[4)]
总清除率	*R*	3.5mL/(h·kg)	68mL/min	111mL/min	1210mL/min	10.24mL/(min·kg)
	S	4.9mL/(h·kg)	74mL/min	111mL/min	1030mL/min	18.1mL/(min·kg)
	R/*S*	0.71	0.92	1.0	1.17	0.57

续表

参数	异构体	华法林	布洛芬[1]	丙吡胺[2]	普萘洛尔[3]	维拉帕米[4]
分布容积	*R*	0.154L/kg	9.9L	48L	4.8L/kg	2.74L/kg
	S	0.16L/kg	10.5L	50L	4.1L/kg	6.42L/kg
	R/*S*	0.96	0.94	0.96	1.17	0.43
半衰期	*R*	35h	2h	5.2h	3.6h	4.08h
	S	24h	1.7h	5.5h	3.5h	4.81h
	R/*S*	1.46	1.18	0.95	1.03	0.85
游离分数/%	*R*	1.2	—	34	20.3	11.0
	S	0.9	—	22.2	17.6	6.4
	R/*S*	1.3	—	1.53	1.15	1.72

1）文献［26］。
2）文献［14］。
3）文献［12］。
4）文献［59］。

对低的器官清除率的对映体药物来说，立体异构体不同的肾脏和肝脏清除率反映了它们在血浆中游离分数，而不是真正的器官从血浆中移除游离对映体（固有清除率）的立体选择性的能力。维拉帕米和异脉定的立体异构体不同的清除率可能是血浆蛋白结合率差异的函数。另外，立体异构体在体液中的浓度与在血浆和血液的浓度比和容积分布一样受到血浆蛋白结合的影响。例如，（*R*）-异脉定比*S*异构体有大的容积分布和体内清除率，是因为（*R*）-异脉定低的血浆蛋白结合能力[13,14]。同样，当以外消旋体给药时，（*S*）-布洛芬有更高的滑膜液浓度，这与它比*R*异构体的血浆蛋白结合低有关[15]。

独特的立体异构体选择组织吸收的例子是非甾体抗炎药。当以外消旋体和单个异构体给药时，（*R*）-布洛芬都表现出较优的脂肪吸收[16]。然而，异构体表现出不同的脂肪分布大概是由于（*R*）-布洛芬选择性代谢吸收和形成辅酶A的硫酯的结果，*S*异构体并没有发生上述转化。

3. 药物的生物转化

与多功能氧化酶、酯酶、转移酶和羟化酶有关的大多数代谢途径表现出对立体异构底物的选择性。在所有立体异构体表现出的处置差异中，生物转化被认为是立体选择性最高的，因为代谢酶和同工酶的专一性。立体异构体在肝脏清除率的总体不同不仅反映了固有清除率对异构体的差异（药物代谢酶的活性），而且反映了血浆蛋白结合的空间效应和肝血流量的差异。

当立体异构体通过各种途径生物转化时，单个异构体对这些转化途径敏感程度的不同产生了立体选择性的代谢模式。例如，（*S*）-华法林主要被氧化成7-羟基-（*S*）-华法林，而（*R*）对映体大部分在6-位发生羟基化[17,18]。在人和狗的体内（*S*）-去甲羟安定葡萄糖苷化的速率是*R*对映体的3～3.4倍[19]。生物转化可能使药物结构产生另外的手性中心，并且生成体内处置特性显著不同的非立体异构的代谢物。

立体异构体的药代动力学一些显著的差异可归因于肝脏内生物转化的立体选择性。在药物强代谢者中，（*S*）-3-甲基苯乙妥因的口服清除是*R*异构体的170倍[20]。这种巨大的清除差异表现在同样患者组（*S*）-3-甲基苯乙妥因的半衰期为2h，而*R*对映体的半衰期为76h。有趣的是，在3-甲基苯乙妥因乏代谢者中，*S*对映体（63h）和*R*对映体（77h）具有相似的半衰期。大量的关于肝脏清除率立体选择性的例子可以在文献中找到[21～23]。

一些非甾体抗炎药在人和动物的体内代谢过程中可能发生构型转化。对人类使用的许多2-芳基丙炔酸非甾体抗炎药来说，*S*异构体是药理活性形式。当以外消旋体或*R*对映体给药时，会发生*R*对映体向*S*对映体的缓慢转化。除萘普生外，所有的2-芳基丙炔酸非甾体抗炎药都是以外消旋体的形式给药的。根据对布洛芬的研究，*R*异构体是通过形成辅酶A硫酯转化成*S*对映体的[24,25]。据估计，从对布洛芬外消旋体药代动力学研究发现，大约有63%的*R*异构体转化成高药理学活性的*S*异构体形式[26]。立体异构的转化对2-芳基丙炔酸非甾体抗炎药并不是普遍的，除报道的布洛芬、非诺洛芬和苯噁丙酸，很少或没有证据显示安得返萘丁美酮、酮洛芬、吲哚布洛芬和卡布洛芬发生转化[27～33]。

那些在肝脏中发生首过代谢的外消旋体药物，一个或两个异构体可能经历了立体选择性的生物转化再进入体循环，导致给药途径影响血浆浓度比和治疗响应。普萘洛尔静脉给药后，两个对映体的机体总清除率只有很小的区别，表现出相似的血浆浓度[34]。当普萘洛尔口服给药时，具有高的生物转化率和低的血浆结合率的低活性*R*异构体，其血浆浓度与高活性*S*异构体相比较低。其他以外消旋体形式给药的药物，如维拉帕米、美托洛尔和丙胺卡因的异构体在口服生物利用度方面都表现出肝脏立体选择性的首过效应[35～38]。

4. 肾脏和胆汁排泄

引起肾清除的肾小管分泌在立体异构体肾脏代谢过程有产生立体选择性的可能。特布他林、异脉定和吲哚洛尔的对映体表现出肾脏清除的立体选择性，可能是由于单个异构体的肾小管分泌不同造成的[39~41]。当检查未结合异脉定的肾脏清除率时，L-对映体的肾脏清除率为29%～86%，并且高于D-异构体。只有药物肾脏代谢在总代谢中占有主导地位时，立体异构体在肾脏清除不同的总体临床重要性才有意义。在现有的技术条件下，立体异构体的胆汁清除是很难做出评价的，并且，许多立体选择性因素影响胆汁排泄的速率。正是因为这些原因，简单的立体选择性胆汁排泄的例子是不常见的。

5. 药效学和立体选择性的药动学

立体异构体药物的效力比率（优劣比率）不仅反映药代动力学，而且反映了单个异构体的药效的变化。在许多方面，药效的不同更会导致异构体的效能和活性的差异。立体专一性在药物-受体相互作用方面表现得比已知的生物转化或蛋白结合作用更为显著。大量的例子已经证实，从这些药物上可以看到立体选择性的药效学。在研究离体组织、器官和药物对血浆浓度反应的关系时，可以发现立体异构体之间药效学不同的证据[42~44]。

根据药效的立体选择性，已经可以解释立体异构体的血药浓度与药理学效应的关系。为了能适当地比较异构体的活性和效力，药理学和毒理学效应应该与游离的立体异构体血浆浓度有关。比较产生50%的抑制合成凝血酶原活性复合物所需的游离华法林血浆浓度，发现*S*-华法林比*R*异构体的抑制活性高五倍[45]。在华法林立体异构体的剂量-效关系中，由于*S*异构体代谢清除较快，部分抵消了其具有更高药效活性的影响。

6. 药动学意义和考虑

立体异构体在药动学和药理学方面会有显著的不同，这种不同引出了关于消旋体给药、采用非立体专一性测定方法时，药物分布、生物利用度和药效学模型研究的有用性的问题。当两个异构体的血浆浓度相加时，机体总清除率、容积分布和生物利用度参数变得复杂了。服用外消旋体后观察到的清除率和生物利用度的数据落在两个异构体之间[46~49]。观察到的外消旋体的半衰期是立体异构体最长的半衰期。必须提供两个立体异构体的药代动力学和药效学数据以及它们之间可能的相互作用，使人们不敢开发单个异构体药物。

既然消旋体给药涉及两个独立的药物，那么两个立体异构体的药动学和药效学数据就存在个体间差异。个体之间药动学的差异导致了在患者群中大范围的血浆浓度变化。多种因素如疾病、年龄、遗传和共存的药物疗法已经表现出对立体异构体药物不同的影响。例如，(*S*)-托卡胺的血浆浓度是*R*对映体的1.5～3倍[50,51]。(*R*)-托卡胺的活性比*S*异构体的高几倍[52]。与健康的人相比，肝病患者的布洛芬异构体有较低的*S*/*R*血浆浓度，这可能与降低*S*异构体向*R*对映体转变有关[53]。

立体异构体个体之间的差异性主要原因是药物生物转化的多态现象[54]。与差的代谢者相比，美托洛尔的两个异构体的代谢表现出较高的清除率，但是，这种差异性的大小在每个人群内又是不同的[38]。为了达到相同的β阻断，美托洛尔的代谢要求低的总血浆浓度[51]。另外，在大部分人体内（*R*)-美芬妥英的口服清除率基本相同，然而，在泛代谢者体内（*S*)-美芬妥英主要经历4-羟基化代谢，比强代谢者的清除率要高得多[55]。

对于立体异构现象在治疗学和药物的药动学方面造成的后果，临床药理学的范围主要是药物的相互作用，特别是抗凝血剂华法令。不仅许多药物相互作用是立体选择性的，而且存在一个异构体改变其对映体的药动学和药效学的可能。一个经典的例子是与非手性保泰松的相互作用，它抑制活性（*S*)-华法林的代谢，但是刺激低活性（*R*）-华法林的代谢[56]。其他立体选择性药物的相互作用还有苯妥英诱导代谢迷索硝唑[57]。苯妥英将（+)-迷索硝唑清除率增强56%，这高于记录的（−)-迷索硝唑33%的清除率增长。

相同的化学和物理性质是对映体在药物代谢动力学和药效学方面相互作用的潜在来源。不论是否通过竞争血浆、组织结合部位或药物代谢酶，当外消旋体给药和单个异构体给药比较时，对映体可能显示出药动学的变化。当异脉定两个对映体单独给药时，异构体表现出相似的清除率和容积分布[14]。然而，当以外消旋体给药时，*S*异构体有较高的清除率和容积分布。布洛芬的异构体也显示了对映体间的相互作用[58]。

在过去，手性药物药动学和药效学的研究忽略了立体异构现象的影响。这主要是缺少立体特异性分析手段的结果。非立体专一性分析得到和药动学和药效学信息，代表了独立异构体的特性之间复杂的复合。随着立体特异性分析手段的出现，我们能更好地理解药物的动力学和作用。

分析方法学和异构现象

对映异构体的拆分通常需要与非对映异构发生相互作用。这种相互作用存在于相关的对映体和通常称为手性选择剂的第二种对映结构体之间。对映异构体和手性选择剂之间的非对映异构的相互作用包括共价键和其他不稳定的非共价键结合。在下面的例子中，*R*和*S*异构体混合体和*R*异构体手性选择剂结合产生两种非对映异构的物质：

$$R+R,S \longrightarrow R\cdots R+R\cdots S$$

在这个过程中，左右异向的对映体（*R*和*S*）与纯手性选择器（*R*）相互作用产生了两个非对映异构关系的产品。形成非对映异构的复合物是对映体分离的基础。

1. 色谱技术

近几年，异构体的色谱分离（对映体拆分）受到了广

Y

泛的重视。液相（LC）和气相（GC）层析过程技术均可采用，因为LC在规模、机理和技术上的灵活性，它的应用更为广泛。LC可用于从分析到工业生产的对映体拆分，利用非对映体相互作用的多种模式、洗脱和置换技术。所有的色谱方法涉及相关对映体和第二手性物质（手性选择剂）非对映异构的相互作用。两个对映体和手性选择剂相互作用的不同点是对映选择性 $\alpha=k'_R/k'_S$；它在本质上是热力学或动力学数据。而对 k'_R 和 k'_S 的选择必须使得 $\alpha\geqslant 1.0$。k'（容量因数）通常是以式（6）定义的：

$$k' = (V_R - V_0)/V_0 \qquad (6)$$

它代表了对映体洗脱需要的柱体积数。洗脱组分需要的流动相的容积 V_R（洗脱体积，保留体积）和死体积 V_0 都是计算容量因子所需要的色谱数据。死体积的定义是洗脱未保留的洗脱物的流动相的体积。

当非对映异构的相互作用通过柱前共价衍生物或通过使用手性流动相添加剂（主要的LC技术）在色谱系统内形成非共价键结合或手性固定相实现时，对映体的色谱分离便可以实现。

2. 柱前衍生化

纯手性衍生试剂和异手性样品反应生成以共价键连接的非对映异构的产物，即柱前方法，用于个体对映异构体的分析。非对映异构的产物在各种各样的色谱条件下（气相和液相）是可以分离的，包括正相和反相方法[59~61]。如图23所示，异手性的胺和纯手性的衍生试剂反应生成两个非对映异构的产物，用液相分离。衍生化反应有氨基化合物的生成，即通过用外消旋的苯丙胺处理氮取代的硫脲氨酰氯（图24）。

脯氨酰基部分的不对称中心构型为纯手性的 S 构型，与外消旋的安非他明（R 和 S）生成非对映异构的氨基化合物 S，R 和 S，S。这些氨基化合物在源于脯氨酰基的手性中心有相同的构型（S），在源于异手性安非他明的手性中心有不同的构型。使用类似的衍生化方法，*N*-三氟乙酰基-*S*-脯氨酰氯生成非对映异构的氨基化合物，用气相方法分离。*N*-三氟乙酰基部分挥发，电子捕获检测衍生物，气相分析。

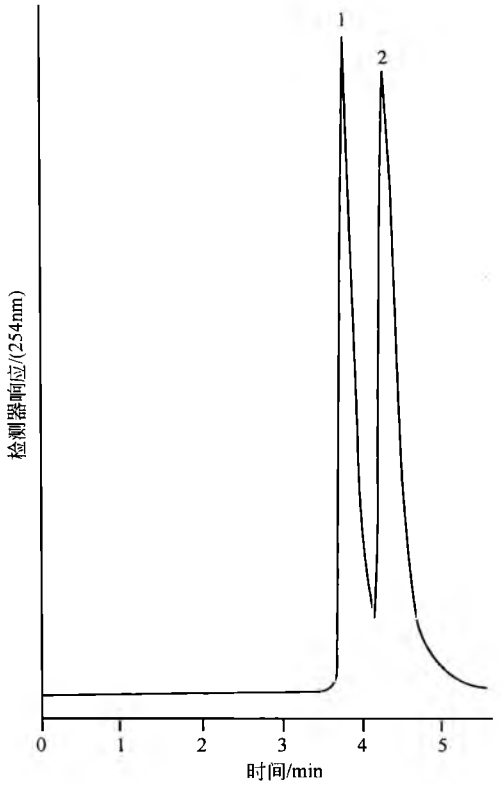


图23 正相色谱分离4-硝苯基-磺酰-S-prolylam-苯丙胺。
1.（R）-苯丙胺；2.（S）-苯丙胺[60]

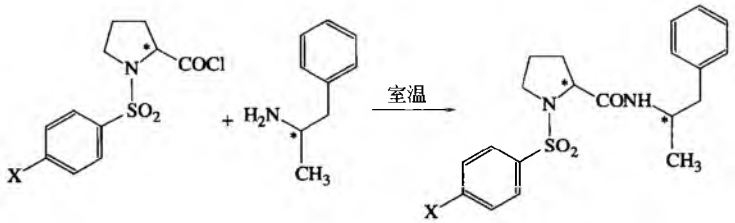


图24 柱前非对映体衍生化

纯手性衍生化试剂通常是修饰过的化合物，有很高的对映异构纯度。成本和可获得性使得天然产物如氨基酸成为极好的对映异构体来源。2，3，4，6-四氧-乙酰基-13-D-葡萄糖基异硫氰酸盐（GITC）是广泛用于胺的非对映异构衍生化试剂（图25）。异硫氰酸盐部分与一级和二级胺反应生成硫脲产物，以共价键连接到纯手性的乙酰葡萄糖和氨基化合物上[63]。如果氨基化合物是外消旋的，那产物是一对非对映异构体。葡萄糖的所有手性中心的构型保持原样，氨基化合物的两个构型产生非对映异构产物[60]。如图26所示，反相液相分离，外消旋氨基化合物样品与GITC衍生化生成非对映异构脲。

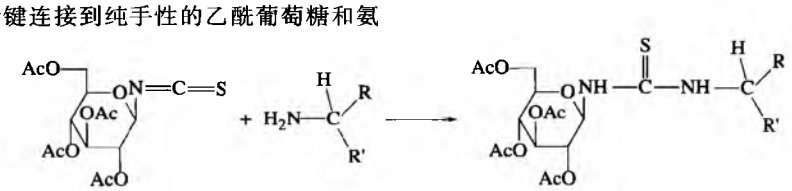


图25 伯胺的GITC衍生化

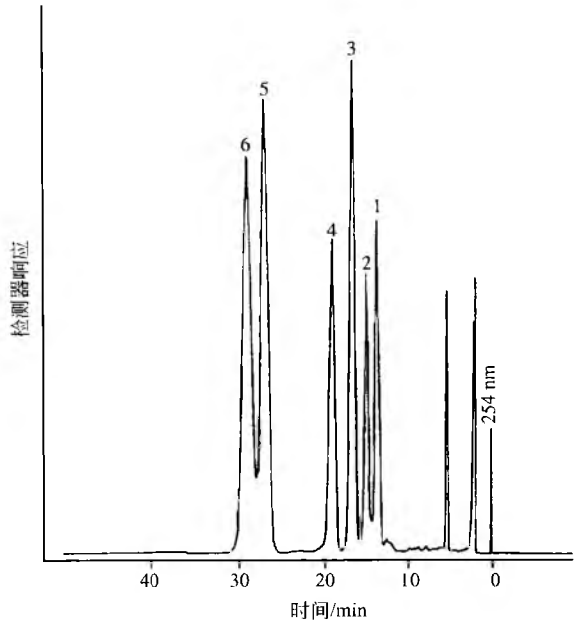


图 26 反相液相色谱分离 GITC 衍生的胺。1. (*R*, *R*)-伪麻黄碱；2. (*S*, *S*)-伪麻黄碱；3. (*R*, *S*)-伪麻黄碱；4. (*S*, *R*)-伪麻黄碱；5. (*S*)-去甲麻黄碱；6. (*R*)-去甲麻黄碱[61]

3. 流动相添加剂

用色谱法直接分离对映异构体有两种不同的方法：非对映异构化可发生在样品和固定相之间或者样品和手性流动相添加剂之间。相应的可得到两种不同的结果：手性固定相和非手性流动相或者非手性固定相和手性流动相。手性流动相添加剂的使用只限于液相方法。大多数广泛应用的实例有配体交换、离子对和包合物。

手性流动相添加剂对最终结果的影响，取决于添加剂和非手性固定相的亲和力。手性添加剂可以和固定相缔合成为动态的手性固定相，或者添加剂与样品分子在流动相中可形成非对映异构的复合物，与非手性固定相结合。

3.1 环糊精

环糊精可能是应用最广的流动相添加剂，用于形成非对映异构的包合物。环糊精（α-、β-和γ-环糊精）是由α-D-葡萄糖单元（6，7 或 8-α-D-葡萄糖分子）环合形成的平头锥形分子（图 27）。环糊精分子的内部空穴有氢和配糖基氧，有相对亲脂性，而环糊精分子外部主要有羟基基团，有相对的亲水性。锥形的较宽的底端由二级羟基基团构成，较窄（平头）底端由个别 D-葡萄糖单元初级羟基基团构成。络合反应只发生在二级羟基端。环糊精的空穴尺度取决于化合物中葡萄糖单元的数目。

环糊精-溶质包合是可逆反应，有平衡常数，类似于扩散控制过程。因此未衍生的环糊精作为流动相添加剂时柱效常常降低。环糊精系统通常会增加峰宽，为达到最佳拆分，相比于传统的反相系统需要减小流速。一些用到这种

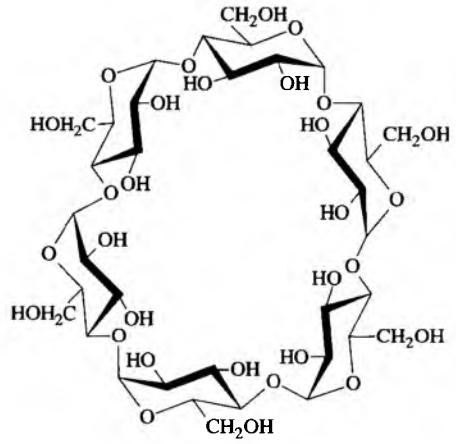


图 27 α-环糊精的结构

技术的对映体分离，报道的流速为 20～40μL/min[64]。可观的柱效变化发生在 0.02～2.0mL/min 的流速范围内。为了优化对映体分离，除了流速，还有流动相中环糊精的浓度需要调节。

流动相的 pH、温度和离子强度也影响环糊精-溶质的包合和保留性能。很多对映体分离用到改进的环糊精系统，如溶质含有芳环取代基或手性中心有类似的环状结构。用β-环糊精和烷基化的β-环糊精改进系统可溶解各种各样的手性巴比妥酸盐、乙内酰脲和相关化合物[65～67]。

3.2 配体交换

配体交换过程可作为流动相添加技术，用于对映体分离。对中心的金属离子，纯手性添加剂和异手性溶质之间形成可以离解的非对映异构络合物（图 28）。流动相中，纯手性配体和金属离子作为添加组分。这些组分可能以充分络合的形式存在，即至少两分子的纯手性添加剂络合到金属离子。异手性样品的对映异构体组分与配体交换生成非对映异构产物。显然，纯手性添加剂配体的浓度相对高于异手性样品分子。从金属离子取代两分子的纯手性配体的可能性很小，限定了可能的产物只有两种，如式（7）所示。



图 28 非对映体螯合剂

$$(\mathrm{HoL})_n\cdots\mathrm{M} + \mathrm{HeL} \longrightarrow (\mathrm{HoL})_{n-1}\cdots\mathrm{M}\cdots\mathrm{HeL} + \mathrm{HoL} \quad (7)$$

式中：HoL 为纯手性配体；HeL 为异手性配体；M 为金属。

配体交换广泛用于氨基酸、氨基酸衍生物和其他二齿配位体的拆分[68,69]。该分离用到水或有机改进的含水流动相，流动相中的金属离子是可溶的，如硫酸铜中的铜（Ⅱ）。固定相通常是烃，如 C_8。一些广泛用到的纯手性配体如 L-脯氨酸和 L-羟基脯氨酸[70]，用大的烷烃如 C_8 进行 *N*-烷基化，加强动态手性固定相。配体的烷烃部分和固定相通常以增溶的方式缔合，使得螯合功能基团暴露给流动

相及其组分。

流动相添加剂配体交换色谱法用于一些手性氨基醇的拆分。用含有 *N*-辛基羟脯氨酸和 5～8mmol/L 二价铜的 0.05mol/L 乙酸缓冲液作流动相的反相色谱法，可以拆分去甲麻黄素、去甲伪麻黄碱、美拉明和去氧肾上腺素的对映异构体（图 29）。所有这些对映异构体与去甲伪麻黄碱呈基线分离。对映选择度在 2.0 左右（$\alpha=2.0$），（1 S，2S）异构体先于（1*R*，2*R*）对映异构体流出。

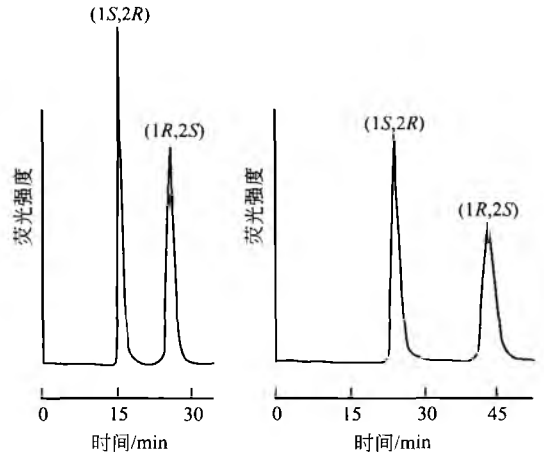


图 29 配体交换液相色谱分离去甲麻黄碱（a）和去甲伪麻黄碱（b）。使用涂布 *N*-*n*-十二烷基-L-羟脯氨酸的 C_{18} 固定相，流动相含有 5mmol/L 的铜（Ⅱ）[72]

3.3 非对映异构的离子对

纯手性反离子加入到流动相用于对映异构体的液相拆分，生成的非对映异构离子对的特性有轻微不同，对映异构体就能分离。L-脯氨酸衍生物和 10-樟脑磺酸通过形成非对映异构离子对，用来拆分对映异构胺[71]。这种分离的相互关系可以显示为以这样的方式进行[72]：如果酸 HA 的 *R* 型对映异构体把碱 B 拆分成它的 *R* 型和 S 型异构体，碱 B 的对映异构体（如 *R* 型 B）能够用来拆分出 *R* 型 HA 和 *S* 型 HA。

4. 手性固定相

液相色谱中的手性固定相（CSP）的应用发展迅速，这些手性固定相有天然材料（如纤维素和淀粉），也有全合成材料。利用的对映体选择和保留机理是形成包合物和 π-电子相互作用。手性固定相中的主要结构类型有纤维素、淀粉、环糊精、合成聚合物、蛋白质、冠醚、金属配合物和芳香 ω 电子系统。

4.1 纤维素和淀粉

纤维素和淀粉是天然多糖，有对映体选择特性。纤维素是 D-葡萄糖单元的线性聚合物，个体纤维通过纤维间的氢键排列成平行的束状（图 30）。淀粉是相似的物质，有更多的分支，对映体选择性类似于纤维素。纤维素的保留机理和对映体选择性是形成氢键和可能在纤维素结构内形成包合物。使用这些材料的色谱方法用正相条件（非极性溶剂），在溶质和手性固定相间形成强的氢键。不同对映体选择和不同保留特性的不同固定相，通过用酯、硝基、氨基甲酸酯和醚，化学修饰羟基得到。因为它们良好的手性识别特性，这些材料被用来拆分大量的药用活性化合物[73]。

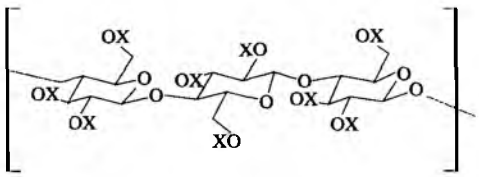


图 30 纤维素（XH）和衍生物

4.2 合成聚合物

合成聚合物能够像纤维素和其他天然聚合物一样具有手性。在聚合以前把手性引入单体，聚合生成手性聚合物。在一些手性催化剂作用下交替聚合一个非手性单体生成手性聚合物。聚甲基丙烯酸酯的手性是由于单螺旋，通过在手性催化剂催化下的聚合得到。这些材料在低压条件下常用于液相色谱，对能形成氢键的化合物显示很好的拆分性能。

4.3 蛋白质

蛋白质是天然的手性聚合物，选择性地与手性溶质相互作用。白蛋白和 α_1-酸性糖蛋白广泛应用于液相色谱中的手性选择。这些蛋白质与二氧化硅以共价键连接，常用于反相分离模型中。牛血清白蛋白相对分子质量约为 6.6×10^4，由 581 个氨基酸组成。这种蛋白质的三级结构由 17 个二硫键控制，pH 为 7.0 时，蛋白质的净电荷是－18。人血浆蛋白（α_1-酸性糖蛋白），包含 5 个碳水化合物单元，相对分子质量为 4.1×10^4。糖单元中的 14 个唾液酸残基与不同的阳离子结合，这就使这种蛋白质有手性选择。

白蛋白和 α_1-酸性糖蛋白与溶质的保留机理和手性识别是相似的。除了疏水络合还包括电荷和两极的相互作用。可以通过调节流动相的 pH、离子强度和有机改性剂来影响保留性能和手性识别[74]。这些改变影响溶质的特性，同样影响固定相蛋白质的特性。改变 pH 能够使中性溶质的保留性能发生变化，改变在手性固定相上的结合位点。

4.4 冠醚

这些大环的醚在溶剂中类似皇冠状，中央的空穴有包含小分子溶质的能力。它们通过富电子的醚-氧键与小的阳离子结合。手性冠醚用来筛选质子化的对映异构胺（图 31）[75]。它们被用作流动相添加剂，与二氧化硅以共价键连接。使用这些材料的色谱方法常用于反相模型，许多分离在纯水流动相中进行，用高氯酸调 pH 到 1～2.0。

在冠醚中引入一个手性中心以后，对胺的一个对映异构体构成了阻挡，这样就达到了手性识别。手性阻挡分子层通常含有一个庞大的基团，能选择性地影响与胺的一个

对映异构体的连接。

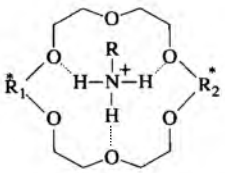


图 31 冠醚复合物

4.5 芳香 π 电子系统

这种手性固定相通常有很强的芳香 π-π 相互作用，两极堆集过程作为保留过程的主要因素。因 Pirkle 和合作者的先驱性工作，它们常被叫做 Pirkle 柱[76,77]。这些 π 供体和 π 受体的相互作用，是一些富电子芳香系统（π 碱）有给出 π 电子给缺电子受体芳香系统（π 酸）的趋势而发生的。这些手性固定相有明显的结构特征上的优势。因为它们的全合成是通过连接小分子手性物质到二氧化硅上完成的，所以所有的溶质与固定相的相互作用能够预测。溶质和手性固定相的相互作用有氢键、空间作用和偶极作用，构象和 π-π 相互作用。这些固定相一般由一个酰基氨基酸以共价键连接到氨丙基硅上（图 32）。酰基部分通常是芳香性的，π 受体 3，5-二硝基苯甲酰最为常用。苯基甘氨酸和亮氨酸具有的手性常用来保留许多手性物质。

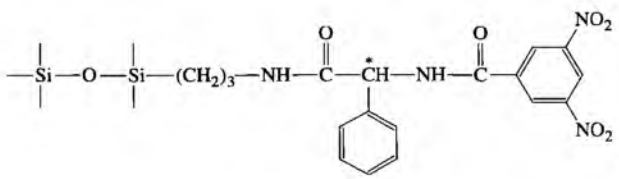


图 32 3，5-二硝基苯甲酰苯基甘氨酸（DNBPE）固定相

这些固定相的主要优点是能够控制结构和交互手性识别。这种交互方式是天然聚合物手性固定相（如纤维素、蛋白质等）所不具有的。那些没有含有互补的 π 酸或 π 碱功能团的溶质分子，常常能够通过衍生化，把所要的特性引入分子中。

参 考 文 献

1. Williams, K. M. Molecular Asymmetry and its Pharmacological Consequences. Adv. Pharmacol. 1991, 22, 57—135.
2. Lehmann, P. A. Stereoisomerism and Drug Action. Trends Pharmacol. Sci. 1986, 7 (7), 281—285.
3. Ariens, E. J. Implications of the Neglect of Stereochemistry in Pharmacokinetics and Clinical Pharmacology. Drug Intell. Clin. Phar. 1987, 21, 827—829.
4. Jamali, F.; Mehvar, R.; Pasutto, F. M. Enantioselective Aspects of Drug Action and Disposition: Therapeutic Pitfalls. J. Pharm. Sci. 1989, 78 (9), 695—715.
5. Smith, D. F. Handbook of Stereoisomers: Therapeutic Drugs; CRC Press, Inc.: Boca Raton, FL, 1989; 405.
6. Wainer, I. W.; Drayer, D. E. Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; 276.
7. Hyneck, M.; Dent, J.; Hook, J. Chirality: Pharmacological Action and Drug Development. Chirality in Drug Design and Synthesis; Brown, C., Ed.; Academic Press: San Diego, 1990; 1—28.
8. Panus, P. C.; Campbell, J.; Kulkarni, S. B.; Herrick, R. T.; Ravis, W. R.; Banga, A. K. Transdermal Iontophoretic Delivery of Ketoprofen Through Human Cadaver Skin and in Humans. J. Control. Rel. 1997, 44 (2), 113—121.
9. Wade, D. N.; Mearrick, P. T.; Morris, J. L. Active Transport of L-DOPA in the Intestine. Nature (London) 1973, 242 (5398), 463—465.
10. Tamai, I.; Ling, H. Y.; Timbul, S. M.; Nishikido, J.; Tsuji, A. Stereospecific Absorption and Degradation of Cephalexin. J Pharm. Pharmacol. 1988, 40 (5), 320—324.
11. Brown, N. A.; Jahnshen, E.; Muller, W. E.; Wollert, U. Optical Studies on the Mechanism of the Interaction of the Enantiomers of the Antiocagulant Drugs Phenprocoumon and Warfarin with Human Serum Albumin. Mol. Pharmacol. 1977, 13 (1), 70—79.
12. Walle, U. K.; Walle, T.; Bai, S. A.; Olanoff, L. S. Stereoselective Binding of Propranolol to Human Plasma, Alpha 1-acid Glycoprotein and Albumin. Clin. Pharmacol Ther. 1983, 34 (6), 718—723.
13. Takahashi, H.; Ogata, H.; Shimizu, M.; Hashimoto, K.; Mashuhara, K.; Kashiwada, K.; Someya, K. Comparative Pharmacokinetics of Unbound Disopyramide Enantiomers Following Oral Administration of Racemic Disopyramide in Humans. J. Pharm. Sci. 1991, 80 (7), 709—711.
14. Giacomini, K. M.; Nelson, W. L.; Pershe, R. A.; Valdevieso, L.; Turner-Tamayasu, K.; Blaschke, T. F. In Vivo Interaction of the Enantiomers of Disopyramide in Human Subjects. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1986, 14 (4), 335—355.
15. Day, R. O.; Williams, K. M.; Graham, G. G.; Lee, E. J.; Knihinicki, R. D.; Champion, G. D. Stereoselective Disposition of Ibuprofen Enantiomers in Synovial Fluid. Clin. Pharmacol. Ther. 1988, 43 (5), 480—487.
16. Williams, K.; Day, R.; Knihinicki, R.; Duffield, A. The Stereoselective Uptake of Ibuprofen Enantiomers into Adipose Tissue. Biochem. Pharmacol. 1986, 35 (19), 3403—3405.
17. Lewis, R. J.; Trager, W. F. Warfarin Metabolism in Man, Identification of Metabolites in Urine. J. Clin. Invest. 1970, 49 (5), 907—913.

Y

18. Toon, S.; Low, L. K.; Gibaldi, M.; Trager, W. F.; O'Reilly, R. A.; Motley, C. H.; Goulart, D. A. The Warfarin-Sulfinpyrazone Interaction, Stereochemical Considerations. Clin. Pharmacol. Ther. 1986, 39 (1), 15—24.
19. Sisenwine, S. F.; Tio, C. O.; Hadley, F. V.; Liu, A. L.; Kimmel, H. B.; Ruelius, H. W. Species-Related Differences in the Stereoselective Glucuronidation of Oxazepam. Drug Metab. Disp. 1982, 10 (6), 605—608.
20. Wedlund, P. J.; Aslanian, W. S.; Jacqz, E.; McAllister, C. B.; Branch, R. A.; Wilkinson, G. R. Phenotypic Differences in Mephenytoin Pharmacokinetics in Normal Subjects. J. Pharmacol. Exptl. Ther. 1985, 234 (3), 662—669.
21. Godbillon, J.; Richard, J.; Gerardin, A.; Meinertz, T.; Kasper, W.; Jahnchen, E. Pharmacokinetics of the Enantiomers of Acenocoumarol in Man. Br. J. Clin. Pharmacol. 1981, 12 (5), 621—629.
22. Gill, T. S.; Hopkins, K. J.; Bottomley, J.; Gupta, S. K.; Rowland, M. Cimetidine -Nicoumalone Interaction in Man, Stereochemical Considerations. Br. J. Clin. Pharmacol. 1989, 27 (4), 469—474.
23. Chandler, M. H.; Scott, S. R.; Blouin, R. A. Age-Associated Stereoselective Alterations in Hexobarbital Metabolism. Clin. Pharmacol. Ther. 1988, 43 (4), 436—441.
24. Hutt, A. J.; Caldwell, J. The Metabolic Chiral Inversion of 2-arylpropionic Acids-A Novel Route With Pharmacological Consequences. J Pharm Pharmacol 1983, 35 (11), 693—704.
25. Caldwell, J.; Winter, S. M.; Hutt, A. J. The Pharmacological and Toxicological Significance of the Stereochemistry of Drug Disposition. Xenobiotica 1988, 18 (Suppl 1), 59—70.
26. Lee, E. J.; Williams, K.; Day, R.; Graham, G.; Champion, D. Stereoselective Disposition of Ibuprofen Enantiomers in Man. Br. J. Clin. Pharmacol. 1985, 19 (5), 669—674.
27. Rubin, A.; Knadler, M. P.; Ho, P. P.; Bechtol, L. D.; Wolen, R. L. Stereoselective Inversion of (*R*)-fenoprofen to (S)-fenoprofen in Humans. J. Pharm. Sci. 1985, 74 (1), 82—84.
28. Bopp, R. J.; Nash, J. F.; Ridolfo, A. S.; Shepard, E. R. Stereoselective Inversion of (*R*)- (—)-benoxaprofen to the (*S*)- (+)-enantiomer in Humans. Drug Metab. Disp. 1979, 7 (6), 356—359.
29. Simmonds, R. G.; Woodage, T. J.; Duff, S. M.; Green, J. N. Stereospecific Inversion of (*R*)- (—)-benoxaprofen in Rat and Man. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinetics 1980, 5 (3), 169—172.
30. Singh, N. N.; Jamali, F.; Pasutto, F. M.; Russell, A. S.; Coutts, R. T.; Drader, K. S. Pharmacokinetics of the Enantiomers of Tiaprofenic Acid in Humans. J. Pharm. Sci. 1986, 75 (5), 439—442.
31. Foster, R. T.; Jamali, F.; Russell, A. S.; Alballa, S. R. Pharmacokinetics of Ketoprofen Enantiomers in Young and Elderly Arthritic Patients Following Single and Multiple Doses. J. Pharm. Sci. 1988, 77 (3), 191—195.
32. Tamassia, V.; Jannuzzo, M. G.; Moro, E.; Stegnjaich, S.; Groppi, W.; Nicolis, F. B. Pharmacokinetics of the Enantiomers of Indoprofen in Man. Int. J. Clin. Pharmacol. Res. 1984, 4 (3), 223—230.
33. Stoltenborg, J. K.; Puglisi, C. V.; Rubio, F.; Vane, F. M. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Stereoselective Disposition of Carprofen in Humans. J. Pharm. Sci. 1981, 70 (11), 1207—1212.
34. Von Bahr, C.; Hermansson, J.; Tawara, K. Plasma Levels of (+) and (—)-propranolol and 4-hydroxypropranolol after Administration of Racemic (+/—)-propranolol in Man. Br. J. of Cli. Pharmacol. 1982, 14 (1), 79—82.
35. Tucker, G. T.; Mather, L. E.; Lennard, M. S.; Gregory, A. Plasma Concentrations of the Stereoisomers of Prilocaine after Administration of the Racemate, Implications for Toxicity? Br. J. Anaesthesia. 1990, 65 (3), 333—336.
36. Echizen, H.; Brecht, T.; Niedergesass, S.; Vogelgesang, B.; Eichelbaum, M. The Effect of Dextro-, Levo-, and Racemic Verapamil on Atrioventricular Conduction in Humans. Amer. Heart J. 1985, 109 (2), 210—217.
37. Echizen, H.; Vogelgesang, B.; Eichelbaum, M. Effects of D, L-verapamil on Atrioventricular Conduction in Relation to its Stereoselective First-Pass Metabolism. Clin. Pharmacol. Ther. 1985, 38 (1), 71—76.
38. Lennard, M. S.; Tucker, G. T.; Silas, J. H.; Freestone, S.; Ramsay, L. E.; Woods, H. F. Differential Stereoselective Metabolism of Metoprolol in Extensive and Poor Debrisoquin Metabolizers. Clin. Pharmacol. Ther. 1983, 34 (6), 732—777.
39. Borgstrom, L.; Nyberg, L.; Jonsson, S.; Lindberg, C.; Paulson, J. Pharmacokinetic Evaluation in Man of Terbutaline given as Separate Enantiomers and as the Racemate. Br. J. Clin. Pharmacol. 1989, 27 (1), 49—56.
40. Lima, J. J.; Boudoulas, H.; Shields, B. J. Stereoselective Pharmacokinetics of Disopyramide Enantiomers in Man. Drug Metab. Disp. 1985, 13 (5), 572—577.
41. Hsyu, P. H.; Giacomini, K. M. Stereoselective Renal Clearance of Pindolol in Humans. J. Clin. Invest. 1985, 76 (5), 1720—1726.

42. Raschack, M. Relationship of Antiarrhythmic to Inotropic Activity and Antiarrhythmic Qualities of the Optical Isomers of Verapamil. Arch. Pharmacol. 1976, 294 (3), 285—291.
43. Giacomini, K. M.; Cox, B. M.; Blaschke, T. F. Comparative Anticholinergic Potencies of R- and S- Disopyramide in Longitudinal Muscle Strips from Guinea Pig Ileum. Life Sci. 1980, 27 (13), 1191—1197.
44. Wise, R.; Wills, P. J.; Bedford, K. A. Epimers of Moxalactam, In Vitro Comparison of Activity and Stability. Antimicrob. Agts. Chemother. 1981, 20 (1), 30—32.
45. Levy, G.; O'Reilly, R. A.; Wingard, L. B., Jr. Comparative Pharmacokinetics of Coumarin Anticoagulants. XXXV. Examination of Possible Pharmacokinetic Interaction between (R)- (+)- and (S)- (—)-Warfarin in Humans. J. Pharm. Sci. 1978, 67 (6), 867—868.
46. Tucker, G. T.; Lennard, M. S. Enantiomer Specific Pharmacokinetics. Pharmacol. Ther. 1990, 45 (3), 309—329.
47. Ravis, W. R. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Stereoisomerism in Pharmaceuticals; Riley, T. N., Ed.; Technomics Publishing Company: Lancaster, PA, 1991.
48. Ravis, W. R.; Owen, J. S. Stereochemical Considerations in Bioavailability Studies. Generics and Bioequivalence; Jackson, A. J., Ed.; CRC Press: Ann Arbor, MI, 1994; 113—137.
49. Mehvar, R.; Jamali, F. Bioequivalence of Chiral Drugs. Stereospecific Versus Non-Stereospecific Methods. Clin. Pharmacokin. 1997, 33 (2), 122—141.
50. Thomson, A. H.; Murdoch, G.; Pottage, A.; Kelman, A. W.; Whiting, B.; Hillis, W. S. The Pharmacokinetics of R- and S-tocainide in Patients with Acute Ventricular Arrhythmias. Br. J. Clin. Pharmacol. 1986, 21 (2), 149—154.
51. Sedman, A. J.; Gal, J.; Mastropaolo, W.; Johnson, P.; Maloney, J. D.; Moyer, T. P. Serum Tocainide Enantiomer Concentrations in Human Subjects. Br. J. Clin. Pharmacol. 1984, 17 (1), 113—115.
52. Block, A. J.; Merrill, D.; Smith, E. R. Stereoselectivity of Tocainide Pharmacodynamics In Vivo and In Vitro. J. Cardiovasc. Pharmacol 1988, 11 (2), 216—221.
53. Li, G.; Treiber, G.; Maier, K.; Walker, S.; Klotz, U. Disposition of Ibuprofen in Patients with Liver Cirrhosis. Stereochemical Considerations. Clin. Pharmacokin. 1993, 25 (2), 154—163.
54. Testa, B.; Mayer, J. M. Stereoselective Drug Metabolism and its Significance in Drug Research. Prog. Drug Res. 1988, 32, 249—303.
55. Wedlund, P. J.; Aslanian, W. S.; Jacqz, E.; McAllister, C. B.; Branch, R. A.; Wilkinson, G. R. Phenotypic Differences in Mephenytoin Pharmacokinetics in Normal Subjects. J. Pharmacol. Exptl. Ther. 1985, 234 (3), 662—669.
56. O'Reilly, R. A.; Trager, W. F.; Motley, C. H.; Howald, W. Stereoselective Interaction of Phenylbutazone with [12c/13c] Warfarin Pseudoracemates in Man. J. Clin. Invest. 1980, 65 (3), 746—753.
57. Williams, K. M. Kinetics of Misonidazole Enantiomers. Clin. Pharmacol. Ther. 1984, 36 (6), 817—823.
58. Lee, E. J.; Williams, K.; Day, R.; Graham, G.; Champion, D. Stereoselective Disposition of Ibuprofen Enantiomers in Man. Br. J. Clin. Pharmacol. 1985, 19 (5), 669—674.
59. Barksdale, J. M.; Clark, C. R. Liquid Chromatographic Determination of the Enantiomeric Composition of Amphetamine and Related Drugs by Diastereomeric Derivatization. J. Chromatogr. Sci. 1985, 23 (4), 176—180.
60. Noggle, F. T., Jr.; DeRuiter, J.; Clark, C. R. Liquid Chromatographic Determination of the Enantiomeric Composition of Methamphetamine Prepared from Ephedrine and Pseudoephedrine. Anal. Chem. 1986, 58 (8), 1643—1648.
61. Barksdale, J. M.; Clark, C. R. Synthesis and Liquid Chromatographic Evaluation of Some Chiral Derivatizing Agents for Resolution of Amine Enantiomers. Anal. Chem. 1984, 56 (6), 958—961.
62. Hengstmann, J. H.; Falkner, F. C.; Watson, J. T.; Oates, J. Quantitative Determination of Guanethidine and Other Guanido-Containing Drugs in Biological Fluids by Gas Chromatography with Flame Ionization Detection and Multiple Ion Detection. Anal. Chem. 1974, 46 (1), 34—39.
63. Debowski, J.; Sybilska, D.; Jurcyak, J. β-Cyclodextrin as a Chiral Component of the Mobile Phase for Separation of Mandelic Acid Enantiomers in Reversed Phase Systems of High Performance Liquid Chromatography. J. Chromatogr. 1982, 237 (3), 303—306.
64. Zukowski, J.; Sybilska, D.; Bojarski, J.; Szejtli, J. Resolution of Chiral Barbiturates into Enantiomers by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Using Methylated Beta-Cyclodextrins. J. Chromatogr. 1988, 463 (3), 381—390.
65. Magurie, J. H. Some Structural Requirements of Resolution of Hydantoin Enantiomers with a β-cyclodextrin Liquid Chromatographt Column. J. Chromatogr. 1987, 387 (5), 453—457.
66. Sybilska, D.; Zukowski, J.; Bojarski, J. Resolution of Mephenytoin and Some Chiral Barbiturates into Enanti-

Y

omers by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography via β-cyclodextrin Inclusion Complexes. J. Liq. Chromatogr. 1986, 9 (6), 591—606.

67. Debowski, J.; Sybilska, D.; Jurcyak, J. The Resolution of Some Chiral Compounds in Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography by Means of b-cyclodextrin Inclusion Complexes. Chromatographia 1982, 16 (2), 198—200.
68. LePage, J. N.; Lindner, W.; Davies, G.; Seity, D. E.; Karger, B. L. Resolution of the Optical Isomers of Dansyl Amino Acids by Reversed Phase Liquid Chromatography with Optically Active Metal Chelate Additives. Anal. Chem. 1979, 51 (3), 433—435.
69. Horikawa, R.; Sakamoto, H.; Tanimura, T. Separation of α-Hydroxy Acid Enantiomers by High Performance Liquid Chromatography Using Copper (II)-L-Amino Acid Eluent. J. Liq. Chromatogr. 1986, 9 (4), 537—549.
70. Yainazaki, S.; Takeuchi, T.; Tanimura, T. Direct Enantiomeric Separation of Norepinephrine and its Analogues by High Performance Liquid Chromatography. J. Liq. Chromatogr. 1989, 12 (7), 2239—2248.
71. Pettersson, C.; Schill, G. Separation of Enantiomeric Amines by Ion-Pair Chromatography. J. Chromatogr. 1981, 204 (1), 179—183.
72. Pettersson, C.; Schill, G. Chiral Resolution of Aminoalcohols by Ion-Pair Chromatography. Chromatographia 1982, 16 (2), 192—197.
73. Shibata, T.; Mori, K.; Okamota, Y. Polysaccharide Phases. In Chiral Separations by HPLC; Krstulovic, A. M., Ed.; Ellis Horwood, Ltd.; Chichester, U. K., 1989; 336—398.
74. Allenmark, S.; Bomgren, B.; Boren, H. Direct Liquid Chromatographic Separation of Enantiomers on Immobilized Protein Stationary Phases. IV. Molecular Interaction Forces and Retention Behaviour in Chromatography on Bovine Serum Albumin as a Stationary Phase. J. Chromatogr. 1984, 316 (12), 617—624.
75. Shinbo, T.; Yamaguchi, T.; Nishimura, K.; Sugiura, M. Chromatographic Separation of Racemic Amino Acids by Use of Chiral Crown Ether-Coated Reversed-Phase Packings. J. Chromatogr. 1987, 405 (9), 145—153.
76. Pirkle, W. H.; Sikkenga, D. L. Resolution of Optical Isomers by Liquid Chromatography. J. Chromatogr. 1976, 123 (3), 400—406.
77. Pirkle, W. H.; Dazzsen, R. Reciprocity in Chiral Recognition: Comparison of Several Chiral Stationary Phases. J. Chromatogr. 1987, 404 (1), 107—111.

进一步阅读

Brown, C. Chirality in Drug Design and Synthesis; Academic Press; San Diego, 1990; 243.

March, J. Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure; Wiley-Interscience; New York, 1985; 82—140.

Wainer, I. W.; Drayer, D. E. Drug Stereochemistry Analytical Methods and Pharmacology; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1988; 276.

（王国平　赵惠清　译）

疫苗及其他免疫产品

Suresh K. Mittal
Harm HogenEsch
Kinam Park
Purdue University, West Lafayette, Indiana, U.S.A.

引言

免疫这个概念是 Edward Jenner 在 18 世纪末提出的，当时他用牛痘病毒作为疫苗来保护人类免受天花病毒的感染。此后的两个世纪中，抗各种细菌和病毒病原体侵染的疫苗得到了发展。毫无疑问，对于感染性疾病而言，免疫是很有效的，是最好的减少人类和动物被各种病毒、细菌、和寄生虫感染的方法。在过去 200 年里，疫苗的研发和生产并没有重大的变化，通常是利用死的病原体及其佐剂或者是利用减毒的病原体，虽然取得了很大成功，但是许多疫苗并不能起到令人满意的保护效果，尚存在着许多不足。另外，还有一些重要的病原体，利用传统的方法并不能获得有效的疫苗。各种病毒抗原（外膜或外壳蛋白或者糖蛋白和其他病毒蛋白）和细菌抗原（表面、细胞内或者毛缘蛋白；细菌多聚糖；细菌毒素；其他参与细菌代谢的蛋白）已经被确定为有潜力的候选疫苗。利用各种方法可将这些保护性抗原开发成有效的疫苗。疫苗不仅仅局限于感染性疾病，在其他一些领域也显示出它的潜力。例如，癌症的治疗、生殖和动物生育的调控等。疫苗战略的概况见图 1。

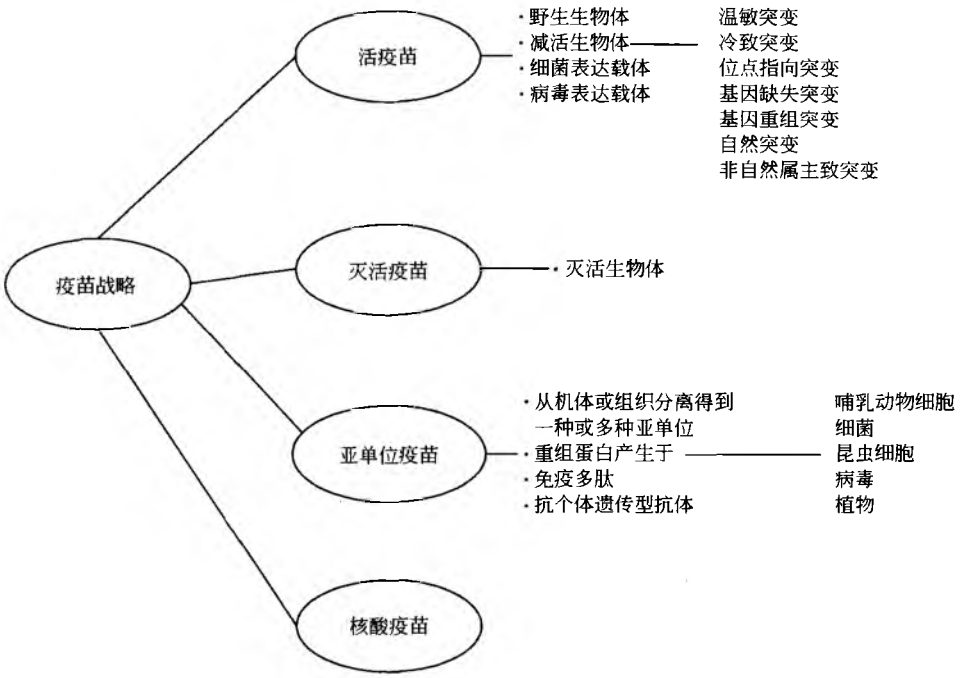


图 1 疫苗战略概况

疫苗

1. 传统疫苗

1.1 灭活疫苗

将灭活的病原体生物用作疫苗，这是一种最简单的生产疫苗的方法，只要供源生物容易培养即可。因而，这也是开发疫苗首选的实验方法。但和其他的疫苗生产技术相比，这个方法只适合于一部分生物。灭活病原体生物的方法有许多，最常见的是化学处理（福尔马林、甲醛或丙内酯）、热处理或者 γ 射线处理。灭活可以提高某些抗原的抗原性，使其在多次接种后仍能产生很好的体液免疫应答。但通常灭活疫苗不能引发有效的黏膜和细胞介导免疫反应，因此其免疫性是有限的。不完全灭活的病原体生物不仅不能保护机体，反而会引发一些疾病。如 20 世纪 50 年代，一些没有完全失活的小儿麻痹症疫苗使用后产生了不良后

果[1,2]。当然，现在用来检测残留感染性的方法更严格。总体而言，灭活疫苗是一种具有很低或者没有感染性的非常安全的疫苗。

存在一些灭活疫苗引起反常疾病或者使病症加重的例子。例如，在20世纪60年代，用福尔马林灭活的呼吸性多核体病毒（RSV）疫苗在给儿童接种以后实际上加重了病情[3,4]。随后人们发现，RSV F和G糖蛋白的抗原性发生了改变[5]，不仅引起体液免疫的一些改变，而且引起了$CD4^+$ T细胞的Th1和Th2成分的变化[6]。

1.2 减毒活疫苗

大多数减毒的生物可用作活的病毒疫苗，实际上，只要不通过自然的感染途径使用，一些有毒生物也能用作活疫苗。例如，人腺病毒4型和7型当通过口鼻服用时可能引起人类急性呼吸道感染，但是当口服肠溶胶囊时却能产生保护作用[7]。

在疫苗生产中，有许多方法可用来减弱病原体的毒性。如可以在非正常的条件下培养生物，从而得到病原性减低的生物，包括在非自然宿主或细胞株里培养。一些生物在不同的pH和（或）温度下复制时也能减毒。当细胞被多种具片段化染色体的病毒感染时（如流感病毒、呼吸道肠道病毒），在产生后代过程中，染色体片段会随机重组。这是一种再分类过程，对生成减毒病毒非常有用。若将一种宿主中的天然病原体移到另一种宿主中，也可能减毒。例如，在20世纪60年代和70年代，牛痘病毒是根除天花的一种减毒疫苗，火鸡疱疹病毒是治疗Marek's疾病（一种鸡疱疹病毒）的减毒疫苗。在一个接种宿主中，减毒生物能够在不引发疾病的情况下复制，因而能够诱导相似于致病生物在自然条件下感染而诱发的免疫反应。肺结核杆菌的Bacille Camet-Guerin（BCG）菌株在胆酸浓度不断增高的培养基中经过200次以上传代培养后被减毒。另外，萨宾小儿麻痹症疫苗在猴子和猴子肾脏上皮细胞中经过几次传代后也能被减毒[8]。囊尾蚴病毒最初寄生在猴子肾脏细胞中，然后在鸭胚胎和人类组织细胞株培养中不断地被减毒[9~11]。

对许多病毒和细菌而言，温度敏感（ts）突变株被证明是最有用的突变体类型，因为它们具有条件致死显型。这种突变体通过改变某个基因的核酸序列使它的蛋白产物在非许可温度（37～39℃）下无法维持它的功能构象，但在许可温度（32～34℃）下能够维持，如疱疹病毒、腺病毒、流感病毒。因此，这些突变体在低温条件下可在黏膜位点（如鼻腔）复制，但是不会引起全身感染和其他疾病。

活疫苗的优点在于：①生产成本低，因为接种量相对来说很低；②接种次数相对较少；③不需要佐剂；④能产生体液和细胞介导的免疫反应；⑤能够通过自然感染途径接种。活疫苗的缺点在于：①没有失活疫苗稳定，常需要低温储存；②一些疫苗在特定的环境下在宿主中能转变成有毒态从而引发临床疾病；③在免疫抑制者、未成年者、老年人或孕妇慎用；④可能带有低水平的残留毒性；⑤可能被外源生物污染。

2. 重组疫苗

2.1 重组载体疫苗

病毒载体：为了开发一种有效的疫苗以对抗黏膜病原体，如呼吸道和肠道病毒，建立一种疫苗输送系统是非常重要的。这个系统不仅能够诱导全身免疫应答和分泌IgA抗体的保护性黏膜免疫应答，对所诱导的免疫类型也有重要的决定作用。许多病毒，如腺病毒、天花病毒、疱疹病毒、小核糖核酸病毒、囊膜病毒、正黏液病毒、副黏液病毒等，已被证实是黏膜表面具有潜力的一种抗原输送载体[12]。具有免疫原性的外来抗原决定基，当病毒外壳或膜蛋白被修饰后，便能够在病毒表面表达[13]。大量的外源病毒抗原已经在病毒载体中表达，并且在实验动物的疫苗研究中已经证实其具有中等到完全的保护作用。用这些载体免疫可以引起外源病毒的表达，类似于不引起疾病的自然感染。具有抗原性的多肽和MHC I类、II类抗原一起表达，能够引起体液免疫和细胞毒性T细胞反应。

腺病毒和天花病毒载体具有许多共同的优点，包括：①易于组建载体；②容易获得相对高浓度的外源蛋白的表达；③相对的热稳定性；④具有大容量的外源DNA插入能力；⑤载体衍生物是非病原性的；⑥宿主范围较广。超过一种以上的外来抗原能在同一载体中表达，可通过接种至单一载体来抗击多种疾病的感染。

表达狂犬病糖蛋白的牛痘病毒用于控制野生动物狂犬病已获得批准，特别是对浣熊、狐狸、臭鼬和土狼[14]。将添加了活牛痘狂犬病糖蛋白重组体的病毒疫苗的饲料散布到狂犬病发生地，吃了这些饲料的狂犬病易感野生动物就能够获得狂犬病毒免疫[15]，这种方法已经取得令人满意的效果。在发展中国家，表达牛瘟病毒F和H基因的牛痘病毒已显示出在调控牛瘟疫上的潜力[16,17]。

为了提高病毒载体在免疫缺陷型宿主中的安全性，防止其不加选择地散布，已经开发了一种复制缺陷型病毒载体。在体外培养条件下，这些载体可达到很高的滴定浓度，但是却不能够在体内复制。复制缺陷型载体在接种宿主中不能感染，使得外来抗原的表达类似于在复制非缺陷型载体中的表达。复制缺陷型腺病毒载体是通过去掉early region 1（E1）基因而获得[18,19]。E1缺失型载体能够在具有E1基因的细胞株中繁殖，并且用这种载体免疫的动物能够产生保护性免疫应答[20]。鸟天花病毒在鸟细胞中能正常繁殖，但是在哺乳动物宿主中不能感染。被鸟天花-狂犬病毒糖蛋白重组体免疫的狗和猫能够不会被狂犬病病毒感染[21]。

细菌载体：类似于病毒表达载体，即由减毒细菌开发成的一种表达外源基因和输送多价疫苗的载体。具有免疫原性的外来决定抗原簇能够在细胞表面蛋白、毛缘蛋白或者鞭毛蛋白被修饰后在细胞表面得到表达。已经证明，牛分支杆菌卡介苗株能够诱导机体产生强烈的体液和细胞介导免疫，已被开发成一种输送载体，并假定接种个体中牛分支杆菌所表达的外源蛋白也能引起强烈的保护性免疫反

应[22]。因为沙门氏菌和S形霍乱菌在肠道中可形成菌落，故可将这些菌株减毒后作为一种黏膜输送载体[23~26]。

各种细菌载体已被用来表达各种细菌（百日咳、肺炎、鼠疫和产单核细胞）、病毒（疱疹病毒、流感病毒、人免疫缺陷型病毒、猴免疫缺陷型病毒和乙肝B病毒）和寄生虫（曼氏血吸虫和利什曼原虫）的抗原[26]。为了将人和动物使用的细菌载体疫苗商业化，细菌在减毒、稳定性、定位和异种抗原的表达水平方面仍需进一步发展。

为了提高外源基因的表达水平，人们开发了一种叫“平衡致死因子”（balanced lethal）的质粒表达载体[27]。外来抗原可能形成包合体或者定位在载体的细胞内，从而影响免疫反应的类型、水平和持续时间。包含HlyB、HlyD和TolC的大肠杆菌α溶血素分泌系统（HSS）能够把HlyA融合的外来抗原输送到细胞外[28]。利用HSS系统来减毒志贺杆菌，实现了志贺毒素B亚基的表达和分泌[29]。

2.2 基因缺陷型疫苗

利用各种病原体染色体的随机变异可以得到很多减毒疫苗。如果这些随机点突变发生回复突变，则减毒生物可重新获得毒性。随着对各种病原体在分子水平上毒性认识的不断增加，更多和毒性相关的基因被鉴定出来。毒性相关基因多是和核酸复制有关的基因，以及其他生物的非结构和结构成分。这就使得去除和毒性相关的一种或多种基因成为可能，这是另一种生产更安全减毒疫苗的战略。

在去除和病毒毒性相关的基因后，伪狂犬病毒的毒性被减弱。这些基因包括和病毒DNA复制有关的胸腺嘧啶激酶基因（非结构蛋白）以及和病毒颗粒装配有关的gC、gG和gE基因（非基本糖蛋白）[30,31]。这种伪狂犬病毒的基因缺失型疫苗已被证明在控制病毒感染上功效显著。已经证明，鼠伤寒沙门氏菌的aroA、aroB和aroC缺失型突变体不能够在宿主中繁殖，因为缺乏芳香族氨基酸，故可将这些基因作为靶点来降低细菌毒性。鼠伤寒沙门氏菌基因缺失型突变体能够在宿主内进行短期复制，引起保护性的免疫应答[32]。通过接种这种基因缺陷型疫苗能够从人群中清除野生的病原体。因为基因缺陷型疫苗的抗体只在受感染的动物体内出现，从而使区分免疫的和天然感染的动物成为可能[33,34]。去除基因能够获得减毒病原体，而插入外源基因则可为开发病毒或细菌载体疫苗提供独特的机会。

2.3 亚单位疫苗

亚单位疫苗中包含病原体生物的一种或多种具有免疫原性的抗原决定簇、蛋白质或其他成分。具有免疫原性的抗原决定簇能化学合成，是一种多肽疫苗，如口蹄疫病毒的多肽疫苗[35,36]。当病原体被破坏后，其中的一种或多种免疫原性蛋白质，如细菌细胞壁蛋白质、鞭毛或纤毛以及病毒外膜、外壳或者核蛋白等能够被纯化。这些成分的分离纯化有时很麻烦，并且花费较大。但是细菌外毒素的纯化、灭活却很方便，可用作内毒素疫苗。

细菌、酵母、哺乳动物细胞、昆虫细胞和植物均可作为外源蛋白的表达系统。大量的外源蛋白能够以低成本从细菌表达系统中生产出来。随着规模扩大和下游加工技术的成熟，细菌表达系统已成为亚单位疫苗生产的首选方法。许多免疫原性蛋白，特别是病毒起源的，需要二次修饰，这对于它们的抗原性是非常重要的。细菌表达系统有可能生产出免疫原性改变的蛋白质，因为这个系统缺乏蛋白质翻译后的修饰过程。但是一些在细菌中表达的病毒糖蛋白能够诱发保护性免疫应答，如猫白血病病毒的gp70基因[37]。一种在酵母中表达的乙肝病毒抗原亚单位疫苗目前已经用于人体，并且证明能够保护人体不受乙肝B病毒的感染。

哺乳动物细胞可对病毒糖蛋白二级修饰，使其具有抗原性，故可作为生产亚单位疫苗的另一种方法。但是这些蛋白质在哺乳动物细胞中的表达率通常都很低。已经证实，病毒转膜anchor去除形式的糖蛋白在哺乳动物细胞中能稳定表达，使被截断的产物大量分泌到培养基中，且这些产物不需要进一步纯化就可以作为亚单位疫苗而使用。然而移动转膜anchor可能会改变分泌蛋白的抗原性。许多在哺乳动物或昆虫细胞中表达的糖蛋白以蛋白质的形式被分泌出来，能够提供保护性的免疫应答，包括呼吸系统合胞体病毒的F和G基因[39]、副流感病毒的HN和F基因[40]以及牛疱疹病毒I型的gD基因[41]。

免疫原性抗原在植物中的生产：在过去的十多年里，各种基因在植物细胞中稳定整合和表达的研究取得了重要进展，从而创造出一些具有农业和工业用途的新植物。插入的基因能够使植物获得对昆虫病原体和除草剂的耐受性，提高对干旱、盐和霜冻的耐受性，以及提高农产品的产量。不可否认，基因工程在植物上的发展对农业生产产生了很大的影响。但是也有人认为，植物生物技术在经济上的主要优势（超过90%）是利用植物作为生物反应器来生产高附加值的产物，如疫苗、工业用酶和其他药物。

在动物细胞中生产亚单位疫苗通常费用很高，因为外源基因的表达量很低并且加工费用也很高。高水平的外源基因表达能够在细菌和酵母中实现，但是用这些系统表达的动物病毒或哺乳动物蛋白质许多未得到适当的二级修饰，如糖苷化、磷酸化、硫酸化等，可能导致重组蛋白抗原性的改变。因为调控蛋白质二级修饰的大部分机制都存在于植物中，因而转基因植物是一种极具潜力的外源基因表达系统，使大量且低成本地生产具有功能性病毒、细菌或寄生性蛋白的亚单位疫苗成为可能[42]。同样，也可在植物中生产功能性多聚性抗体分子用于被动免疫[43]。

在植物中生产外源蛋白的两大主要战略是：①嵌合基因稳定地整合到植物染色体中或可诱导的启动子后面[44,45]；②操纵植物病原体病毒[46]。在植物中表达的外源蛋白通常占植物总蛋白的0.01%～1%。

将在转基因烟草中产生的乙肝B病毒表面抗原HBsAg注射到小鼠体内能够引起免疫应答[47]。用表达大肠菌热不稳定肠毒素B亚基（LT-B）的转基因烟茎饲料饲养的小鼠能产生抗LT-B抗体，特别是IgA抗体[44]。有人假想，转基因植物可能作为一种可食用的疫苗提供一种非常便宜的

经口免疫的方法[48]。

2.4 反基因疫苗

另外一种提供保护性免疫应答的方法是利用反基因抗体作为疫苗。抗体结合位点的可变区内的特殊序列即“特殊基因决定簇”相互组合形成与抗原的结合位点，该部位称为抗体决定簇（paratopr），决定簇内包含有模拟免疫抗原的抗原决定基，称为反基因抗体。即反基因抗体是抗原的一种镜像，故可用来代替免疫原产生保护性的免疫应答。单克隆反基因抗体即是这样一种抗原。当通常的抗原不能产生强烈的免疫反应或者相似于宿主抗原时，反基因疫苗是非常有用的。已试验过的反基因疫苗的病原体包括单核细胞增多性李斯特菌、肺炎链球菌、乙肝病毒 B 和仙台病毒[49,50]。该类疫苗正处在开发阶段。

3. DNA 疫苗

近来在重组疫苗设计领域又出现了一种新的方法，即在异种启动子调控下表达特定基因的质粒 DNA 来免疫哺乳动物宿主。引入的 DNA 被细胞吸收，使特定的基因得以表达。细胞表达的外来抗原能够被宿主免疫系统识别，引起体液和细胞免疫反应。DNA 疫苗也可以称为多核糖体疫苗或者核酸疫苗（NA）。这种疫苗综合了灭活疫苗和减毒疫苗两者的优点，打破了它们的局限性。核酸疫苗能够引发和减毒活疫苗相类似的免疫应答反应。它们也具有类似于灭活疫苗的安全性，但是没有因佐剂或者动物来源蛋白引起的明显的副作用。

核酸疫苗的概念起源于接种裸质粒 DNA 的实验动物产生保护性免疫应答的初步研究[51]。肌肉接种实验发现，细胞吸收裸 DNA 的效率较低，而且大部分 DNA 在转录前就被降解了。为了增加宿主细胞吸收 DNA 的效率，降低 DNA 在细胞内的降解，人们开发了许多输送系统，例如，用覆盖核酸疫苗的微小金粒子轰击细胞[52,53]，把核酸整合到脂质体等多聚阳离子脂质体[54,55]、生物降解聚合物中[56]（图 2）。最近已经证实，海藻酸微球能够作用质粒 DNA 包埋、输送和表达的系统[57]（图 3）。用含有质粒 DNA 和牛血清腺病毒 III（BAd3）的微球接种小鼠，转基因的表达率比那些只含有质粒 DNA 的有很大的提高。和其他的输送系统类似，根据接种路径的不同，海藻酸微球所引发的黏膜或系统免疫应答的强度也不同[58]。因为藻酸盐微球体能够被巨噬细胞和树状细胞吸收，因而能对所引发的免疫应答产生正面影响。

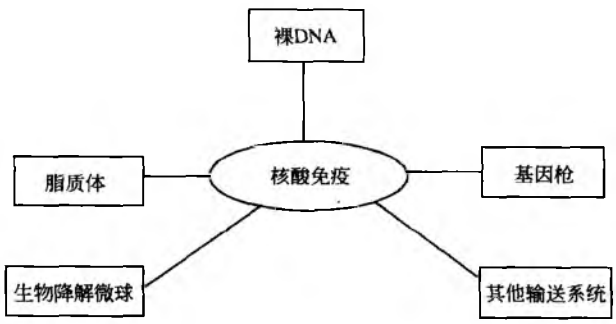


图 2 核酸输送方法

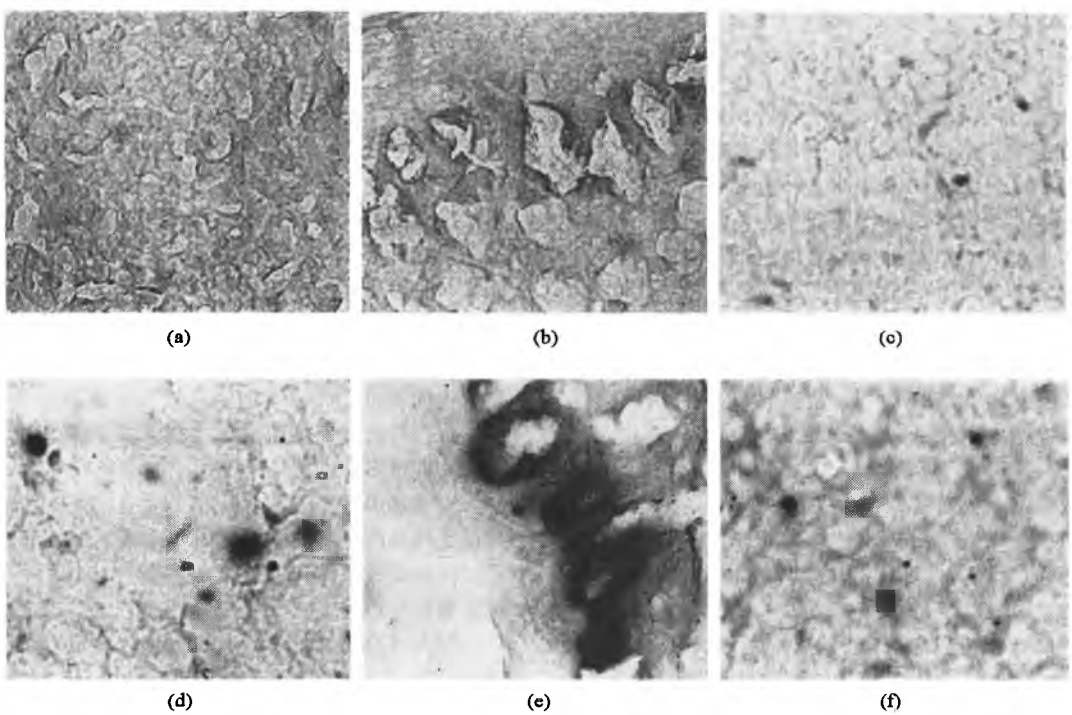


图 3 小鼠经口接种含有质粒 DNA 的海藻酸微球后组织中的 β-牛乳酸的表达：接种含有牛腺病毒 3 型的微球的动物的（a）肝脏，（b）小肠，（c）脾脏区；接种含有 LacZ 质粒＋Bad3 微球的动物的（d）肝脏，（e）小肠，（f）脾脏区[57]

另外，许多因素对由核酸疫苗引发的免疫应答的水平和类型具有一定的影响，包括免疫原的类型、接种的剂量和次数、异源性调控序列、输送系统、接种途径和免疫调控分子的存在与否等。大量免疫原性抗原，如 HIV-1、SIV、HTLV-流感病毒、乙肝 B 病毒、乙肝 C 病毒、疱疹病毒、肺结核、利什曼原虫、痢疾和很多已经被核酸疫苗表达的抗原，已被应用于临床，并取得了令人鼓舞的成果[59~63]。

4. 佐剂

佐剂是一类化合物，当和抗原一起接种后能够提高抗原的免疫应答。免疫原性的提高能够被检测到，如血清和（或）黏膜分泌物中的抗原特异性抗体水平增高、抗一种增加的抗原的应答反应、细胞免疫应答的增高或者是以上几者的结合。佐剂在诱导一些相对较弱的免疫原，例如，亚单位疫苗所产生的保护性免疫应答上是特别重要的。佐剂能提高抗原免疫原性的机制还不十分清楚，但应包括免疫刺激物、抗原加工过程的改变、持续的抗原释放（仓储效应）等。不同类型的免疫应答可以经口免疫产生，但输送需求不同。

许多化合物可以用作佐剂。佐剂的分类因为化学组成的多样性和交错性而变得很复杂，其作用机制也都不太清楚。只有铝佐剂被 FDA 批准能用在人疫苗中。Quil A 是一种皂角苷化合物，在兽用疫苗中是一种常用的佐剂，并且也是一种免疫刺激复合物（ISCOM）。这些佐剂会在后面详细叙述。关于其他佐剂的详细讨论可以参见最近出版的相关专著[64~66]和综述[67]。

4.1 免疫刺激复合物

免疫系统可分为适应性免疫系统，包含 B 和 T 淋巴细胞，和天然免疫系统，包括中性粒细胞、巨噬细胞、树状细胞和一些可溶因子，如补体系统。天然免疫系统在适应性免疫系统的激活上发挥着很重要的作用。树状细胞是一种抗原提示细胞，能把信号整合到适应性免疫系统中，从而激活 T 细胞，也有可能激活 B 细胞。T 细胞带有抗原特异性受体，能够识别 MHC I 分子（$CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞）和 MHC II 分子（$CD4^+$ T 救助细胞）呈现的多肽。仅仅和抗原特异 T 细胞受体结合是不够的，T 细胞还需要接受一些由 CD28 和 CD40 配体所输送的共同刺激信号。树状细胞表达 MHC I 和 MHC II，激活它们能提高共同刺激分子 CD80、CD86（CD28 配体）和 CD40 的表达。激活树状细胞的信号包括一些生理性分子。天然免疫系统带有受体，能够认识病原体而非哺乳细胞所表达的分子，在感染时能够提醒天然免疫系统。这些与病原体有关的分子包括脂多糖（LPS）、木糖醇和带有非甲基化 CpG 的细菌 DNA。另外，树状细胞能被宿主细胞在受到压力或细胞死亡时所释放的成分激活。这些危险信号的成分目前还不太确定，但可能包含热休克（heat shock）蛋白质。这些生理分子和危险信号能直接激活树状细胞或者激活天然免疫系统中的其他成分，从而释放出细胞因子和其他中介体来激活树状细胞。被激活的树状细胞再激活 T 和 B 细胞。

免疫应答根据分泌的细胞因子的类型和免疫应答的结果而分成 1 型和 2 型。1 型免疫应答的特点在于能分泌 γ-IFN，在小鼠中能产生 IgG2a，激活巨噬细胞、NK 细胞、细胞毒性 T 细胞。2 型免疫应答能够分泌 IL-4、IL-5、IL-13，产生 IgG1、IgE。应答反应之间能相互调控。1 型和 2 型免疫应答的分类基础并不是很明确。IL-12 是推动 1 型反应的很重要的因子，而 IL-4 则在 2 型应答中起主要作用。像 LPS 和细菌 DNA 之类的微生物能够刺激树状细胞分泌 IL-12，从而诱导 1 型免疫应答反应。

佐剂激活免疫应答的机制有可能是直接或间接地通过类型识别和危险信号受体发出信号。非常强的佐剂通常包含一些微生物成分，如 LPS、分支杆菌或其衍生物。这些佐剂与相应的识别受体结合后，可刺激 IL-12 的合成和 1 型免疫应答。和细胞因子同时免疫能直接激活和影响树状细胞，进而影响免疫应答的效果。利用 IL-12 作为佐剂的利什曼原虫疫苗实验能证明以上论点。利用利什曼原虫抗原免疫遗传易感的 BALB/c 小鼠并不能引起保护性免疫应答，但将 IL-12 和抗原一起注射免疫小鼠后，小鼠能对感染产生明显的拮抗。IL-12 的效果与 γ-IFN 的增加和抗原特异性 T 细胞体外分泌 IL-4 的减少相关。

4.2 改变抗原的加工

大多数带有 α-β-T 细胞受体的 T 细胞不能与完整的蛋白质识别和反应。相反，T 细胞能识别一些短肽，这些肽源于和 MHC I 和 MHC II 分子相关的蛋白质。MHC I 连接的多肽产生于细胞质（内部途径），可被 $CD8^+$ T 细胞识别。胞浆中的蛋白质被蛋白酶复合物降解或在蛋白体中降解，所生成的多肽被输送到带有 MHC 分子的粗面内质网中，与 MHC I 分子结合使其稳定存在，然后复合体被转移到细胞表面。相反，通过内吞作用进入细胞的蛋白质在内涵体中被部分地降解成多肽，之后和从内质网转移到内涵体中的 MHC II 分子结合。MHC II-多肽复合体陈列在细胞表面，能被 $CD4^+$ T 细胞识别。

含有单一蛋白质或灭活病原体的疫苗能激活 $CD4^+$ T 细胞，因为抗原经内吞后能被 MHC II＋抗原提示细胞加工。根据所包含的佐剂类型的不同，激活的 $CD4^+$ T 细胞分别能引发类型 1 和 2 免疫应答反应。但是这种疫苗通常不能激活 $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞，因为这种细胞的激活需要内部途径加工的抗原。一些特定的佐剂，如脂质体、皂角苷 QS-21 和聚乳酸-*co*-乙醇酸（PLGA）能诱发对蛋白抗原的细胞毒性 T 细胞应答[68]。这些佐剂似乎是负责将部分注射的抗原运至抗原递呈细胞的胞液中，供内部途径的加工。其发生机制还不清楚。

4.3 抗原的持续释放

抗原缓慢而持续地释放可能是通过连续不断地激活免疫系统而诱发较强的免疫应答实现的，该过程可能与铝佐

剂和矿物油有关。新技术可以让我们设计一些疫苗，在单次注射后能够以一定的时间间隔从储库释放出抗原，例如，利用 PLGA 微球来嵌合抗原。通过改变聚合物的组成和微球的大小能够改变抗原的释放。在单剂量的疫苗中组合多种 PLGA 微球能使抗原呈脉冲式释放[69]。对获得最大免疫应答反应的理想抗原释放模式现在还知之甚少，已有研究显示，持续不断地抗原释放并不能诱导所希望的强烈的细胞应答。数学模型也许可以帮助我们设计一种在一次注射以后抗原的最适释放战略[70]。

5. 铝

用于人疫苗中的铝佐剂是磷酸氢铝（通常指磷酸铝）或者是铝的氢氧化物（氢氧化铝）[71]。基于铝的疫苗的制备是把抗原吸附到商用氢氧化铝或者磷酸铝凝胶中，或者是混合抗原和明矾（硫酸钾铝）中来获得沉淀。明矾沉淀的佐剂和磷酸铝佐剂在化学和物理性质上是相似的[71]。铝佐剂的表面电荷和形态影响其吸附能力，吸附速率和程度更取决于抗原溶液的 pH、离子强度和抗原的等电点。

铝佐剂广泛用于白喉-破伤风-百日咳（DTP）疫苗和大部分的乙肝疫苗中，并且具有优越的安全性，但是并非理想的佐剂，因为它们对免疫应答的提高作用相对较弱，并不是对所有的抗原都有效，更重要的是它们只能提高体液免疫应答（2 型），对细胞免疫应答（1 型）几乎没有什么作用。

铝提高免疫应答的机制现在还不清楚。早期研究提示，铝佐剂能使吸附的抗原在一定的时间内缓慢释放出来（仓储效应）。但是最近的实验发现，注射后抗原很快被动物吸收，并且磷酸铝能够提高 DNA 编码抗原的 DNA 免疫应答，说明铝化合物的吸收并不是佐剂作用的关键因素，铝是通过其他的机制来提高免疫应答的。另外也需要考虑其免疫增强的选择性，例如，铝佐剂主要诱导 2 型免疫应答，即使是在 IL-4 或者 IL-13 缺失的情况下都能诱导向 2 型免疫应答的分化。铝诱导 IL-4 和 IL-13 缺失的小鼠产生 1 型和 2 型免疫应答，提示铝诱导的 IL-4 和（或）IL-13 的分泌能抑制 1 型应答，但是并不能抑制完整动物的 2 型应答[72]。1 型免疫应答的缺失是铝在细胞内病原体和肿瘤疫苗应用中的一个不足之处。最近的研究证实，吸附 IL-12 的铝佐剂能够诱导强烈的 1 型应答，表明铝诱导的 1 型应答抑制是可以被克服的[73]。

6. 皂角苷

皂树（*Quillaja saponaria* Molina）树皮所含有的皂角苷具有免疫激活活性，长久以来已经被人们所熟知。一种部分纯化的成分 Quil A 具有较低的毒性和更高的佐剂活性，并且已用在兽用疫苗中。Quil A 能进一步分离成具有不同程度毒性的组分。QS-21 是一种具有更低毒性和更强活性的佐剂组分。皂角苷可能是直接激活免疫系统[74]的，包括体液（主要是小鼠中 IgG2a 抗体）和细胞免疫应答。QS-21 通过 MHC I 途径加工和提示蛋白抗原，引起细胞毒性的 T 细胞应答。细胞因子的分析显示，QS-21 能激活 1 型细胞因子的生成。

免疫刺激复合物（ISCOMs）是 30～40nm 的颗粒，含有 Quil A、胆固醇、抗原和磷脂[74]。它们用于预防马流感的疫苗中。ISCOMs 佐剂疫苗能够通过 Quil A 的免疫刺激作用激发强烈的体液和细胞免疫应答，并且能够把颗粒靶向巨噬细胞。和 Quil A 一样，ISCOMs 靶向抗原也是通过 MHC I 途径加工，从而诱导细胞毒性 T 细胞应答的。

7. 疫苗的输送

7.1 注射和黏膜途径

免疫的成功与否主要取决于把抗原提示到宿主免疫系统中的方法最常用的是注射（如静脉内、肌肉内、会阴内、皮下），但最近的研究显示，其他输送途径，如鼻腔内、口腔和经皮用药也是非常有效的。在一些例子中，通过黏膜途径免疫能引起更好的 IgA 合成应答。鉴于非注射疫苗输送具有许多明显的优势，科研工作者正努力开发非注射型疫苗输送系统。

注射途径：对大多数抗原而言，注射免疫仍然是优选的免疫方法之一，因为由它产生的免疫应答更有效。每年有上百万人通过注射接种失活的流感疫苗。皮下免疫失活流感疫苗能够诱发血液和上呼吸道的免疫应答，即外周血液和扁桃腺内的流感病毒特异抗体的增加在免疫一周内很快达到顶峰值[75]。注射免疫编码疱疹病毒 2 型的 DNA 疫苗能够引起系统的细胞应答和体液应答。通过肌内注射和皮内免疫而产生的黏膜体液应答具有和通过黏膜免疫相同的体液应答效应。DNA 疫苗能够激活 Peyer's 淋巴结的免疫应答，它是引起黏膜应答的主要诱导部位[76]。但是对其他抗原而言，注射免疫的应用因为黏膜免疫应答的不充分而受到限制。

注射免疫对发展中国家也是很困难的，因为没有完善的医疗保健体系。通过皮下注射进行大量的免疫是一个劳动密集型的过程，需要健康的保健人员，这在实际中是不可行的。这个问题在免疫上百万的动物时变得更为突出。例如，通过肌内注射进行鸡新城疫疾病的常规免疫，如果给每一只鸡接种显然是不可行的[77]。最近无针注射系统的发展使注射免疫变得更为容易，但是仍然需要个别接种。常见的无针注射系统有 Powder-Ject®、Medi-Jector®、Bio-jector®、Vitajet®、Bio-Set®以及 Intraject®，它们都是利用高压在瞬间把药物送入皮肤。这种喷射免疫技术用在 DNA 的口内投药上能够引起强烈的 IgA 黏膜应答[78]。DNA 疫苗的口内喷射投药技术具有简单、快速的优点，并且投药后能够激活与黏膜有关的淋巴组织中的特异性黏膜 IgA。

注射免疫的结果依赖于给药的途径。对于质粒 DNA 疫苗，虽然通过舌下和皮下输送也能诱导产生很高的抗体滴度，但最高水平的抗体是通过肌肉和静脉注射而诱发的。基因枪输入皮肤能够在四个星期持续诱发单一的 IgG1 抗体（类似于 Th2），并且在晚些时候能够产生很少量的 IgG2a。

其他途径，如腹膜内、会阴内、皮下、鼻内吸入、鼻内滴入、直肠内、阴道内、眼和口腔均不能产生强烈的免疫应答反应[79]。

双室注射器为了同时输送两种疫苗，例如磷酸聚核糖基核糖醇结合的破伤风内毒素和白喉-破伤风-全细胞百日咳，以及失活的小儿麻痹症疫苗，可以用一种双室注射器输送。注射器的近端装有冷冻干燥的固态疫苗，远端装有液态另一种疫苗，它们能够在固态端混合。通过双室输送免疫和分别两次接种而产生的免疫应答反应是一样的。用这种注射器可以安全而有效的输送两种不同的疫苗，这两种疫苗目前还没有制成单一的制剂[80]。它的主要优点在于降低了疫苗的输送费，增加了疫苗的可接受性和覆盖率[81]。

黏膜途径：黏膜途径是免疫的一种新方法，能够获得注射免疫无法产生的黏膜免疫。黏膜免疫能够代替注射免疫诱导保护性的免疫应答。与注射免疫相比它具有一系列的优势：第一，黏膜免疫不需用皮下注射的针头，针头的使用不便。第二，在胃肠道、呼吸道和泌尿生殖系统中感染抗原和黏膜表面的接触总面积是巨大的，即黏膜表面提供了抵抗疾病的第一道免疫防线[82]，这使得通过免疫启动与黏膜相关的淋巴组织（MALT）非常必要。单独的注射免疫通常不足以诱发黏膜免疫应答，因为激活 MALT 通常需要抗原和黏膜表面的直接接触[83]。黏膜组织是被内部连接的局部免疫系统所保护的，通常和系统免疫是分离开的[84]。在一个普通的黏膜防御系统中，一种和局部淋巴组织反应的抗原能够激活 IgA 前体细胞然后可能转移到其他黏膜表面，在其他的黏膜组织中引起免疫反应。众所周知，黏膜免疫系统能产生人体 70%的抗体[85]。黏膜免疫系统的示意图见图 4。黏膜可输送多种抗原，经口、鼻、气管和直肠，能在黏膜表面通过分泌 IgA 激活免疫应答。MALT 的存在表明，身体特定部位的黏膜免疫可以通过免疫身体的远端部位而获得。虽然黏膜和体液免疫系统通常是彼此独立的，但通过一种途径服用的抗原能够修饰通过随后另一种途径而引起的免疫应答[86]。

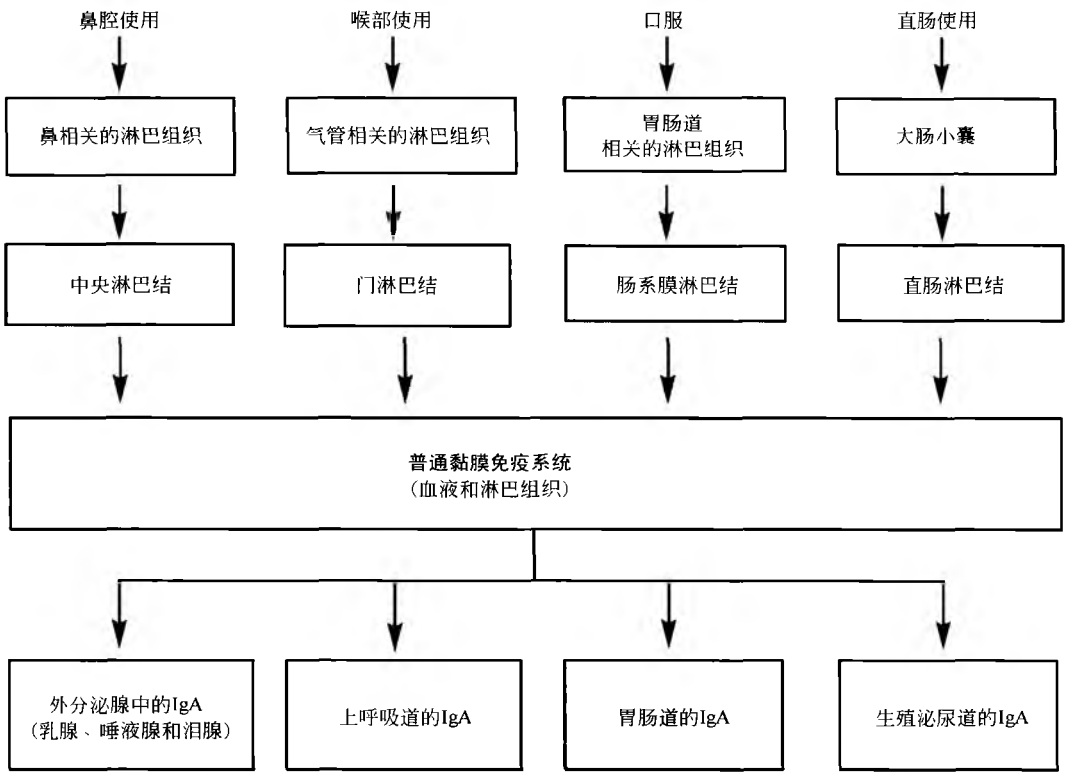


图 4　通过常见的黏膜刺激系统在各个黏膜表面进行黏膜免疫和产生 IgA 抗体。鼻和直肠免疫通常分别在上呼吸道和泌尿生殖道产生 IgA，而口服免疫的效应器部位有望包括很多黏膜表面

在各种黏膜途径中经口免疫是最值得推荐的一种方法，因为它简便易行并且制造费用低廉[87]。胃肠道是黏膜免疫系统的最大组成部位，对其性质研究得也很透彻。疫苗口服具有很高的依从性，因为它避免了各个年龄段的个体的注射用药。经口接种疫苗的机制见图 5。一种包埋在微球中的抗原在经口免疫后被肠淋巴组织淋巴结中的 M 细胞吸收，随后被转移到巨噬细胞和 B 细胞，这些细胞再把抗原提示给 T 帮助淋巴细胞。这些细胞通过肠系膜淋巴结（MLN）和胸导管（TD）迁移到血液中，最后定位在效应器部位，如胃肠道的黏膜、上呼吸道、泌尿生殖器和腺体组织。在效应器部位移动的 B 细胞进入到血浆细胞产生 IgA 抗体。多聚 IgA 通过上皮细胞以分泌型的 IgA（sIgA）释放出来。

Y

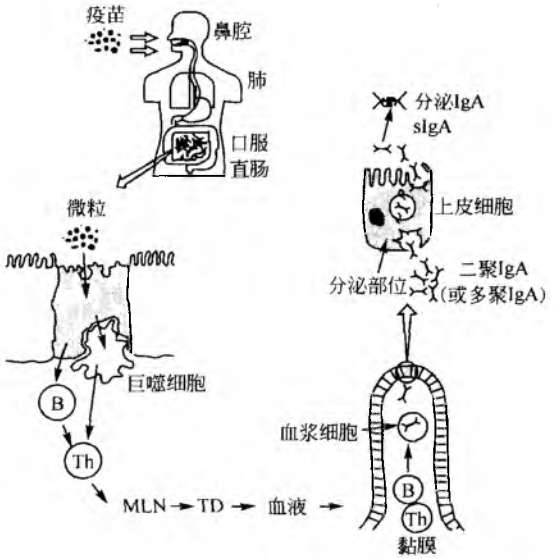


图 5 经口接种疫苗的黏膜免疫

内淋巴结免疫是最有效的肠道免疫，可以用它来筛选口服疫苗的候选抗原，而不需要复杂的同步测试口服输送系统[88]。针对幽门螺旋杆菌，个体通过内淋巴结免疫能够使感染比非免疫对照组降低 84%～91%。重组幽门螺旋杆菌尿素酶疫苗在小鼠中和抗生素/抗酸治疗在人体中的疗效是一致的。经口免疫在治疗溃疡上比传统方法更优越，因为相比于传统的长期治疗，它具有简单快速的优点，并且疫苗利用身体的保护机制可以建立一种长时间的免疫[89]。

经口接种疫苗的一个局限是它并非总能诱导足够的免疫。第一，胃肠道是一种通过酸和酶消化蛋白质的吸收器官。因为大多数抗原是蛋白质，它们有可能被酶和胃酸降解，导致口服可溶性抗原无效。阻止抗原降解是经口免疫成功的第一步。在经口免疫前添加蛋白酶抑制剂也许能诱导完全的免疫反应，但是这种方法在实际应用中是不可行的。因为存在许多不能被特定蛋白酶抑制剂抑制的酶，更重要的是，并不能保证蛋白酶抑制剂在抗原存在于胃肠道时才发生作用。第二，经胃肠道吸收的抗原是非常少的。口服数克抗原，仅有几纳克能通过肠道屏障[90]。对于特定的抗原来讲，经口免疫可能比注射免疫在诱导系统免疫上的效果更差[91]。经口免疫产生的保护效应通常只能持续几个月到一年，时间相对短。为了获得与系统免疫相同的效应，经口免疫通常需要更高和更频繁的口服剂量。在口服疫苗处方中采用更有效的佐剂也许有助于黏膜组织获得强烈而持久的免疫反应。

针对抗原在胃肠道中易被降解以及全身吸收差的问题，可将抗原包裹在微粒中（也叫微囊或微球）。包埋在微粒中的抗原不会被降解，并且微粒的性质使得它们能够被淋巴结 M 细胞更好地吸收。大量的研究显示，经口输送的微粒中的抗原能够引起较好的黏膜免疫反应。值得注意的是，病毒本身可作为一种颗粒化的疫苗输送系统。许多病毒在经口免疫后，能够很有效地诱导免疫反应。Norwalk 病毒是引起传染性肠胃炎的一个主要原因，即使在没有佐剂帮助时免疫健康成人也能引起免疫反应[92]。流感病毒口服后也可产生免疫应答，经口免疫能否成功取决于能否把微粒靶向至淋巴结。微粒表面的化学性质影响靶向以及淋巴结 M 细胞对抗原的吸收[93]，但是二者之间的关系仍然不太清楚，而这恰恰是开发一种更好的经口疫苗的关键。

经鼻免疫途径作为一种非侵入性免疫方法引起人们越来越多的兴趣，相对于各种疫苗输送系统，鼻内免疫是非常有效的。经鼻服用后水溶液和微球中的疫苗能够引起很好的免疫应答。用被溶液和微球包埋的破伤风内毒素疫苗免疫小鼠，能够产生高水平的特异性 IgG 和 IgA 抗体[94]。鼻腔疫苗输送比经口输送能更强烈地诱导上呼吸道产生特异性的 IgA 和 IgG 抗体[95]。对于防止病原体黏附于泌尿生殖道的远端免疫，经鼻免疫也比口服途径更优越[95]。有趣的是，经鼻滴入疫苗的体积是很重要的[94]。大体积（50μL）的微球混悬液比小体积（10μL）的混悬液进入肺部的比率高。

人们一般认为，黏附在鼻腔黏膜上的微球能够引起更强的免疫应答，因此许多由黏膜黏附性聚合物制备的微球，如壳聚糖，被广泛地用于鼻疫苗的制备。

经皮免疫或透皮免疫是一种具有潜力的免疫方法，因为它不要求专业医务人员来注射。完整皮肤外用 DNA 疫苗的免疫结果是令人鼓舞的。在小鼠皮肤局部滴加腺病毒或者脂质体复合质粒 DNA，能够取得局部的转基因表达。它也能引起抗 DNA 编码蛋白的免疫应答[96]。

为了改进免疫效果，采用经皮电致孔技术探索无佐剂、无针孔皮肤免疫是可行的[97]。这种经皮电致孔途径能引起比皮下免疫更强的十四肽应答反应。但是对白喉类毒素而言结果是相反的。经皮电致孔对无佐剂的皮肤免疫，特别是对相对分子质量低、免疫原性弱的抗原是一种很有潜力的技术。在皮肤表面外用霍乱毒素或者细菌外毒素，能够在血浆和黏膜分泌物中检测到抗原特异性 IgG[98,99]。可见，透皮免疫能有效地引起全身和黏膜的保护性免疫反应[100]。

肺部免疫是大规模免疫中非常有效的一种方法。肺部给药通常是采用定量的、抛射剂驱动的小颗粒气雾剂输送灭活的细菌疫苗，能较好地刺激实验动物产生抗呼吸道感染的黏膜免疫反应[101]。粉末吸入装置的发展使得采用干粉吸入技术通过肺部途径输送疫苗成为可能[102]。将干粉疫苗直径控制在 1～5μm，可实现肺深处的最大沉积[101]。

可以通过直接将基因输送到呼吸系统来达到治疗或免疫的目的。肺部细胞能够吸收和表达质粒 DNA，不管它是以裸露的形式还是以阳离子脂质体的形式进入的。对于给定量的 DNA，将其与最小量的脂质均匀混合，能改进免疫结果[103]，由此制得的微粒能增强细胞吸收和免疫应答。

注射和黏膜组合免疫：黏膜和全身免疫途径的组合（例如，注射免疫紧接经口免疫或者相反）通常能诱导黏膜免疫应答，其效果通常比单一的任何一种免疫途径都更好[91]。给猪肌肉接种经甲醛灭活的含有弗氏（Freund）不完全佐剂的猪肺炎霉形体疫苗，或将微球中的相同疫苗通

过手术加强免疫到淋巴结的黏膜表面，均能在一定程度上诱导产生保护性免疫反应[104]。

7.2 抗原的输送系统

抗原输送系统的一个主要功能是在储存时维持一个稳定的剂型，使服用后的抗原在体内能激起强烈的免疫应答。开发一种能够保存抗原并且能将其在所希望的时间内输送到特定的靶器官的疫苗是必需的。在所希望的时间内持续或者脉冲式地释放疫苗能够消除因为多次服用疫苗而造成的不便，从而获得令人满意的免疫应答。抗原输送系统对免疫结果起着非常关键的作用，输送抗原的方式显著影响免疫应答。目前，抗原输送系统分成两类：活的减毒微生物和非活微粒系统。

活的减毒微生物：活的减毒细菌和病毒不仅可用作疫苗，也可用作输送系统，辅助外来抗原引起体液、黏膜和细胞免疫应答。30 多年前人们已经能成功地应用活减毒口服疫苗来对抗肺结核和小儿麻痹症，现在许多活的减毒微生物已经被用作抗原输送系统。制备活疫苗相对容易且费用低廉，因为不需要进行抗原纯化或者添加佐剂[82]。可以通过热、化学或者 UV 变异来诱导微生物的减毒株。它的另外一个优点是能够用自然的感染途径来投药。最近，人们通过遗传工程技术成功获得了减毒的病原微生物，如令某些特定基因发生突变或者除掉一些毒性基因。因为大多数的感染是通过黏膜表面发生的，因而活的减毒疫苗是最适合的病原体。活的减毒口服疫苗有望提供一种最方便有效的对抗肠道疾病的免疫方法[105]。口服的减毒沙门氏菌能和 MALT 反应[82]。其他活的减毒微生物疫苗还有 BCG（卡介苗）、腺病毒以及小儿麻痹症病毒。

一些病毒和细菌本来就非常稳定。例如，小儿麻痹症病毒能够制成一种冷冻的液体。一种表达外来抗原的活小儿麻痹症病毒载体能够诱导小鼠产生抗体和细胞毒性的 T 淋巴细胞反应[106]。但是大部分活细菌和病毒通常是以冷冻干燥粉末的形式保存的，所需要稳定剂只能通过反复试验选择。用得最广的非特异性稳定剂是糖、氨基酸、多元醇以及中性盐，它们能维持蛋白质的完整构象。比如斑疹伤寒细菌疫苗冻干粉末，包埋在明胶中可制成口服疫苗[107]。

该法的缺点是如果病原体减毒不充分有可能引发所要阻止的疾病，即使充分减毒，仍然可能引起免疫缺陷型个体严重感染。另外，如果减毒病原体没有完全定性，还有可能逆转而带有全毒[82]。如果病原体被过分减毒则不能引发合适的免疫应答，因而在最低毒性和最大免疫性之间维持一个合适的平衡是非常重要的。该平衡在正常人群中可以实现，但在免疫缺陷的人群中，哪怕程度很低，也不能实现[108]。使用活疫苗时需要注意的另一方面是活疫苗的配送需要一个冷藏配送链，许多发展中国家还做不到这一点，以至于抵消了使用活疫苗载体的优越性[109]。

非活微粒输送系统：非活免疫原诱导产生的免疫应答通常比活的免疫原更弱，持续时间更短[82]。非活免疫原通常被制成微粒，以保护抗原，提高细胞吸收率。能用作抗原输送系统的非活微粒包括聚合物微粒、脂质体、类病毒颗粒、囊泡和交联蛋白晶体。微粒的定义范围应足够广以包括其他的所有形式，如蛋白质聚集体。用在疫苗中的微粒通常小于 50μm[110]。但是小于几百微米的颗粒通常也称作微粒。鉴于微粒的大小会影响免疫的结果，因而对于特定的应用，指定不同的微粒平均粒径是很重要的。

聚合物微粒和脂质体被广泛用于许多药物，包括抗原的可控释剂型中，它们对口服抗原的输送作用重大，能保护抗原不会在胃肠道中被酸和酶降解，因而可以作为一种能延长抗原保质期的稳定疫苗载体。微粒输送系统输送抗原具有以下的潜在优势：能够减少接种次数，提高通过注射和经口免疫途径而产生的免疫应答，降低产生免疫保护所需的抗原总剂量[111]。由该系统诱导的免疫应答较强，因为加载的抗原因受到微粒保护而不被降解，另外抗原能缓慢地释放出来，故可将微粒输送系统视为佐剂[66]。

聚合物微粒，大量的聚合物，如聚（甲基丙烯酸酯）、聚（丁基-氰基丙烯酸酯）、聚（丙交酯-*co*-乙交酯）、聚丙烯淀粉、右旋糖酐、白蛋白以及海藻酸已被广泛用于制造输送的疫苗微粒。所有用于控释给药的聚合物都能用于疫苗输送[112]。用水不溶性聚合物，如聚（甲基丙烯酸酯）、聚（丁基-氰基丙烯酸酯）和聚（丙交酯-*co*-乙交酯），来制备微粒需要使用有机溶剂或者高温，两者都不利于维持抗原的四级结构。用水溶性聚合物来制备微粒通常需要交联反应来维持聚合物在水中的不溶状态，所用交联剂不仅能和聚合物链交联，也要能和抗原分子交联。亲水聚合物吸水后膨胀，可形成水凝胶，用它来制备微粒还不需要有机溶剂或者高温，故较常采用。在免疫中使用什么样的聚合物通常取决于服用途径。

对于注射免疫，聚（丙交酯-*co*-乙交酯）制备的可生物降解的微粒应用最广。聚（丙交酯-*co*-乙交酯）具有很好的生物相容性，微粒的大小容易控制，直径小于 100μm 的微粒能通过普通大小的针头（口径 22G 或更小），可以很容易地注射给药。因为聚合物降解缓慢，抗原能长期缓慢释放出来，与明矾佐剂的作用相似，因而能够提高免疫应答。其他的聚合物，如壳聚糖，也可用在疫苗的制备上。因为微粒的重要作用之一是能缓慢地释放抗原，因而人们试验了各种方法来使抗原以所希望的速率释放，如通过修饰微粒表面从而改变抗原的吸附和解吸动力学，或者通过改变微粒孔径来控制抗原从微粒中的释放。

在口服免疫中微粒的大小非常重要。微粒除了能保护抗原免于胃肠道中酸和酶的降解，还能提高淋巴结中 M 细胞对抗原的吸收，其吸收效率就依赖于微粒的大小。通常认为小于 10μm 的微粒更易于被 M 细胞吸收，并且粒径越小吸收越好。研究显示，100nm 颗粒被肠道组织吸收的效率比更大微粒高出 15～250 倍[113]。一般认为，具有疏水表面的微粒比亲水表面的微粒能更好地被吸收，但是还没有得到明确地证实或支持。存在于胃肠道中的微粒会被其中的大量蛋白质以及多糖吸附，导致微粒表面的化学性质显著改变，进而影响其吸收。

Y

病毒样颗粒（virus-like particle，VLP）包含一种或多种病毒的蛋白质外壳，免疫原性很强，能够和特定的抗原决定簇共价连接[114]。最近研究发现，利用基因工程技术制备的细小病毒样颗粒能在特定的位点表达外源多肽，从而合成大量的高免疫性多肽，并且能够强烈诱导产生抗体、帮助 T 细胞以及细胞毒性 T 淋巴细胞应答[114]。注射乳头状瘤病毒重组 VLP，可诱导机体产生 VLP 特异的体液和细胞免疫应答[115]。通过黏膜途径免疫无佐剂的 VLP，能够在黏膜表面引发特异的抗体以及系统的 VLP 抗原特异性 T 细胞应答[115]。

脂质体是一类含有天然或者合成磷脂的囊泡，其双分子层可以是单室或多室的，大小 1～10μm。由带负电荷的脂质分子形成的脂质体与二价阳离子反应可形成一种叫做蜗牛壳的脂质体，呈固体、多层结晶的结构。因为脂质体和蜗牛壳能够保护胃肠道中的抗原并且将其输送到淋巴结中，因而被认为是一种有效的经口免疫的输送系统。

免疫脂质体与其他的疫苗输送系统一样能够发挥免疫佐剂的作用。脂质体的表面电荷能够影响免疫应答。据报道，含有可溶性抗原带正电荷的脂质体与带负电荷和中性电荷的含同等浓度抗原的脂质体相比，是一种更具潜力的诱导抗原特异性、细胞毒性 T 淋巴细胞应答以及延迟型过敏反应的诱导剂[116]。研究显示，正电荷脂质体能够有效地输送蛋白质样抗原到巨噬细胞/抗原提示细胞的细胞质中，在那里抗原经加工然后被 MHC I 分子提示，从而诱导细胞介导的免疫应答[116]。

一种叫做融合基因的脂质体，在它的表面含有仙台病毒的高免疫原性的糖蛋白，可增高小鼠的抗原特异性体液免疫。当小鼠经嵌合在融合基因脂质体中的 OVA 免疫后，血清中抗卵白蛋白抗体的水平会显著提高。融合基因脂质体在诱导抗原特异性抗体的合成中似乎起着免疫佐剂的作用[117]。

病毒颗粒是一种包含病毒融合蛋白的脂质体，它能有效地进入细胞并与内涵体膜融合。病毒融合蛋白在内涵体的低 pH 环境下成为活性态，从而把内含物释放到胞浆中[118]。含有乙肝病毒 A 和流感疫苗的病毒颗粒引发的局部副反应水平较低，并且显示出较强的免疫原性。经鼻服用的流感疫苗病毒颗粒显示出较好的安全性和免疫原性[119]。研究表明，免疫重构流感病毒颗粒是输送合成蛋白疫苗的合适系统。病毒颗粒在设计靶向多种抗原和多种病原体的组合疫苗上具有很大的潜力[120]。

胶束是表面活性剂分子在水溶液中的聚合体。表面活性剂是水溶性的，由亲水性的头部和疏水性或脂溶性的尾部组成。它们能够在水相/脂相界面排列起来以降低表面张力，增加可混合性以及乳剂的稳定。一些由嵌段共聚物，如聚氧乙烯-聚氧丙烯-聚氧乙烯制成的聚合物胶束也可用作疏水药物的输送系统。也可用其包裹抗原来免疫。

囊泡是非离子型具表面活性的小泡，用于开发经口或口服途径的疫苗的输送系统。将卵白蛋白包裹入各种冻干的含有蔗糖酯、胆固醇以及三十二烷磷酸的囊泡制剂中，由此制得的卵白蛋白的囊泡含有 70%的硬脂酸蔗糖酯和 30%的棕榈酸蔗糖酯（40%单酯、60%二酯/三酯），可显著提高血清、唾液和肠洗液中抗体的滴度[121]。

交联蛋白晶体可用作抗原。一个超过六个月的研究显示，人血清白蛋白的交联蛋白晶体的免疫原性比可溶性蛋白高 6～30 倍[122]。交联蛋白结晶以一种很慢的速度释放抗原，在这个意义上交联蛋白结晶起着一种类似储库的作用。交联蛋白晶体具有高稳定性、高纯度、生物可降解性以及易于制备的特点，因此在疫苗制剂上具有非常广阔的应用前景[122]。交联蛋白晶体也是微粒，也能通过各种途径免疫。

免疫调节

免疫调节指的是以一种非抗原特异性的治疗方式，能够改变免疫应答。提高免疫应答能够治疗一些慢性感染疾病和肿瘤疾病，但是当免疫应答不适宜或者夸大时，包括过敏和自身免疫疾病，抑制免疫应答则是必需的。许多治疗能够影响免疫系统的活性。目前可用的免疫抑制药物作用很广，具有一些我们所不希望的副作用。设计一种能够选择性地提高或者抑制免疫应答的治疗方法是当前该领域的主要研究方向。一些较新的治疗方法有靶向共同刺激分子、使用 CpG DNA 以及细胞因子。

1. 共同刺激

T 细胞的激活需要两个信号。第一个信号使 T 细胞受体重新识别 MHC/肽复合体，该信号不会引起 T 细胞的增殖和分化，除非它接受到第二个刺激信号。已经鉴别出的几种共同刺激信号主要来源于 T 细胞上的 CD28 和抗原提示细胞上 B7 分子的结合。至少有两种 B7 分子，B7-1（CD80）和 B7-2（CD86）。抗原提示细胞的激活使 B7-2 的表达增高，紧接着是 B7-1。第二种 B7 分子的 T 细胞配体是细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4（CTLA-4 或 CD152），T 细胞受体与抗原提示细胞上的 MHC/肽复合体结合后很快在 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞中大量表达。但是和 CD28 提供的正向信号相反，CTLA-4 使 T 细胞应答变低。对于 B7 分子，CTLA-4 比 CD28 分子具有更高的亲和性，当树状分子表达的 B7 较低时，能够阻碍 T 细胞的激活，甚至当它的表达大量增加时能够终止免疫应答。一种可溶的嵌合蛋白 CTLA4Ig，能阻碍 CD28、CTLA-4 和 B7 分子的结合，因而可能阻碍 T 细胞的活化。将这种蛋白质用于患有寻常牛皮癣（一种免疫介导皮肤疾病）的患者，在临床 I 期实验中大概 50%患者的病情能够得到明显改进[124]。利用特异抗体选择性地抑制 CTLA-4 可能加强免疫系统。将手术和抗 CTLA-4 抗体疗法相结合，能够有效的阻止小鼠前列腺癌转移的复发[125]。

不断有 CD28 和 B7 的同源体被鉴别出来，在共同刺激上发挥一定的作用[126]。这些分子可能在免疫调节中能提供另外的靶点，表明有可能通过药物干预细胞免疫应答。

2. CpG DNA

细菌 DNA 比脊椎动物 DNA 具有更高的 CpG 二核苷酸含量，和脊椎动物 DNA 不同，细菌 DNA 的 CpG 通常是非甲基化的。非甲基化的 CpG DNA 序列是一种强烈的免疫系统刺激物[127]。确切地说，CpG DNA 能刺激巨噬细胞和树状细胞分泌 IL-12，因而是 1 型免疫应答系统的一种潜在刺激物。它也能直接刺激 B 细胞增殖并分化成免疫球蛋白分泌细胞。CpG DNA 的细胞受体还没有鉴别到。DNA 可能是通过内吞作用进入到细胞中的，一些 DNA 可从内涵体中游离到细胞质中，在那里激活各种信号途径。

人们正在探索含有非甲基化 CpG 序列（CpG-ODN）的寡核苷酸在免疫疗法上的应用。CpG-ODN 能够保护小鼠不被细胞内细菌单核细胞增多性李斯特菌和细胞内硕大利什曼原虫感染，并且能够治愈已被硕大利什曼原虫感染的小鼠。CpG-ODN 具有的强烈的 1 型免疫刺激性质，有望成为很好的疫苗佐剂。其实，同时服用 CpG-ODN 和抗原能显著提高体液和免疫应答。过敏性疾病如哮喘和遗传性皮炎是由一些无害抗原引起的 2 型免疫应答而导致的。用 CpG-ODN 能治愈小鼠的气道过敏，表明 CpG 能引起 1 型免疫应答的逆转。CpG DNA 在癌症的免疫治疗上也占有一席之地，它可通过诱导 IL-12 来激活 NK 细胞。用 CpG-ODN 和抗肿瘤抗原的单克隆抗体治疗接种了肿瘤细胞的小鼠，能显著提高小鼠的生存率。

3. 细胞因子

细胞因子在免疫和炎症反应的调控中起着关键性的作用，并且也是治疗的潜在靶点。但是细胞因子系统的基因具有多样性和多余性，大多数细胞因子的半衰期很短且作用区间较窄。尽管存在这些局限，人们仍然试图开发一些试剂能够阻止或者提高特定细胞因子的活性。

两个利用细胞因子疗法的成功例子是利用 β-干扰素来治疗多种硬化症，以及利用 α 肿瘤坏死因子（α-TNF）抑制物来治疗风湿性关节炎和肠炎。

3.1 β-干扰素

临床实验已经证明，皮下注射重组或者天然 β-干扰素能降低多种硬化症复发的速率[128,129]。β-干扰素的作用机制现在还不清楚。β-干扰素能降低体外 α-TNF 的合成率，并且增加 IL-10 的分泌。α-TNF 是一种副炎症细胞因子，与多种硬化症中的脱髓鞘作用有关。IL-10 能抑制巨噬细胞发挥作用，阻碍 α-TNF 的生成。并且，β-干扰素有可能阻碍白细胞进入到中枢神经系统，是炎症反应的关键成分，在多种硬化症中能引起损伤。

3.2 α 肿瘤坏死因子（α-TNF）

α-TNF 是一种具有多种生理效应的细胞因子，是在体内由多种细胞产生的转膜前体分子。α-TNF 由 TNF-α-转化酶裂解形成三聚体，能和在许多不同类型的细胞中表达的 TNF-受体 I（TNFR）或 TNF-受体 II 结合。TNFR 的细胞外功能区能被酶裂解，并且能通过阻碍 α-TNF 和连接在细胞上的受体的结合来抑制 α-TNF 的活性。最近的研究证实，抑制 α-TNF 的活性可使许多风湿性关节炎和肠炎患者的临床症状得到改善[130,131]，表明 α-TNF 在风湿性关节炎和肠炎疾病的发生中具有重要作用，虽然准确的作用机制现在还不清楚。用抗 α-TNF 单克隆抗体或者可溶性的 TNFR 融合蛋白能够抑制 α-TNF 的活性。为了降低抗小鼠单克隆抗体的抗体诱导，可将这些单克隆抗体嵌和（例如，恒定部分来源于人免疫球蛋白，α-TNF 特异的可变部分来源于小鼠）或者人源化（除了折叠到 α-TNF 结合区域的补充决定区，所有的免疫球蛋白都来源于人）。TNFR 融合蛋白是由 TNFRII 的细胞外功能区和人免疫球蛋白的 Fc 部分共同组建的，它比天然存在的可溶性的 TNFR 具有更长的半衰期。

未来疫苗制剂的挑战

微生物病理学、免疫学、遗传工程学、植物遗传学和载体表达技术的发展为新一代疫苗和其他药物的研发奠定了基础。在输送系统上的新发展使我们能够运用新方法通过调控释放和减少降解来提高亚单位抗原或核酸的免疫源性。

为了更方便、有效地免疫，疫苗输送技术还有待改进。目前，接种失活疫苗或者亚单位抗原的剂量需要加强，因为天然生物中缺乏可遗传的免疫源性。因而降低接种次数是免疫的首要目标之一。理论上，各种控释技术能使抗原在一定的时间内以一种持续的或者脉冲的方式释放，并且指导抗原输送到特异的抗原提示细胞，从而增加疫苗的有效性。除了控释技术，加强单次注射免疫还需要开发一些更好的佐剂。研究佐剂的作用机制以便使其在群体免疫中具有可重复性。对于免疫缺陷者、未成年者、老人及孕妇，免疫存在的问题和需求也有待解决。对 Th1 和 Th2 应答理解的深入可以帮助我们设计一些更好的疫苗。某些方法可以把一些疫苗连接在一起形成多价疫苗，从而提高发达和发展中国家人群的免疫依从性。大多数的病原体是通过黏膜途径进入宿主的，因而新一代的疫苗应该能够在黏膜部位提供有效的保护。理想的疫苗应该做到一次接种终生保护的。新一代的疫苗制剂还应该具有较高的稳定性，避免在储藏过程中出现问题。

参 考 文 献

1. Peterson, L. J.; Benson, W. W.; Graeber, F. O. Vaccination Induced Poliomyelitis in Idaho. J. A. Med. Assoc. 1955, 159, 241－244.
2. Nathanson, N.; Langmuir, A. D. The Cutter Incident. Poliomyelitis Following Formaldehyde-Inactivated Poliovirus Vaccination in the United States During the Spring of 1955. I.

Y

Background. Am. J. Hygiene 1963, 78, 16—28.

3. Kapikian, A. Z.; Mitchell, R. H.; Chanock, R. M.; Shvedoff, R. A.; Stewart, C. E. An Epidemiologic Study of Altered Clinical Reactivity to Respiratory Syncytial (RS) Virus Infection in Children Previously Vaccinated with an Inactivated RS Virus Vaccine. Am. J. Epidemiol. 1969, 89, 405—421.
4. Kim, H. W.; Canchola, J. G.; Brandt, C. D.; Pyles, G.; Chanock, R. M.; Jensen, K.; Parrott, R. H. Respiratory Syncytial Virus Disease in Infants Despite Prior Administration of Antigenic Inactivated Vaccine. Am. J. Epidemiol. 1969, 89, 422—434.
5. Murphy, B. R.; Prince, G. A.; Walsh, E. E.; Kim, H. W.; Parrott, R. H.; Hemming, V. G.; Rodriguez, W. J.; Chanock, R. M. Dissociation Between Serum Neutralizing and Glycoprotein Antibody Responses of Infants and Children Who Received Inactivated Respiratory Syncytial Virus Vaccine. J. Clin. Microbiol. 1986, 24, 197—202.
6. Connors, M.; Kulkarni, A. B.; Firestone, C. Y.; Holmes, K. L.; Morse, H. C., III; Sotnikov, A. V.; Murphy, B. R. Pulmonary Histopathology Induced by Respiratory Syncytial Virus (RSV) Challenge of Formalin-Inactivated RSV-Immunized BALB/c Mice is Abrogated by Depletion of $CD4^+$ T Cells. J. Virol. 1992, 66, 7444—7451.
7. Top, F. H., Jr.; Buescher, E. L.; Bancroft, W. H.; Russell, P. K. Immunization with Live Type 7 and Type 4 Adenovirus Vaccines. II Antibody Response and Protective Effect Against Acute Respiratory Disease Due to Adenovirus Type 7. J. Infect. Dis. 1971, 124, 155—160.
8. Sabin, A. B.; Boulger, L. History of Sabin Attenuated Poliovirus Oral Live Vaccine Strains. J. Biol. Standardization 1973, 1, 115—118.
9. Parkman, P. D.; Meyer, H. M., Jr.; Kirschstein, R. L.; Hopps, H. E. Attenuated Rubella Virus. I. Development and Laboratory Characterization. New Engl. J. Med. 1966, 275, 569—574.
10. Plotkin, S. A.; Farquhar, J.; Katz, M.; Ingalls, T. H. A New Attenuated Rubella Virus Grown in Human Fibroblasts: Evidence for Reduced Nasopharyngeal Excretion. Am. J. Epidemiol. 1967, 86, 468—477.
11. Bunyak, E. B.; Hilleman, M. R.; Weiber, R. E.; Stokes, J., Jr. Live Attenuated Rubella Virus Vaccines Prepared in Duck Embryo Cell Culture. I. Development and Clinical Testing. J. Am. Med. Assoc. 1968, 204, 195—200.
12. Morrow, C. D.; Novak, M. J.; Ansardi, D. C.; Porter, D. C.; Moldoveanu, Z. Recombinant Viruses as Vectors for Mucosal Immunity, Defence of Mucosal Surfaces: Pathogenesis, Immunity and Vaccines. Current Topics in Microbiology and Immunology; Kraehenbuhl, J. P., Neutra, M. R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1999; 236, 255—273.
13. Muster, T.; Ferko, B.; Klima, A.; Purtscher, M.; Trkola, A.; Schulz, P.; Grassauer, A.; Engelhardt, O. G.; Garcia-Sastre, A.; Palese, P. et al. Mucosal Model of Immunization Against Human Immunodeficiency Virus Type 1 with a Chimeric Influenza Virus. J. Virol. 1995, 69, 6678—6686.
14. Pastoret, P. P.; Brochier, B.; Languet, B.; Thomas, I.; Paquot, A.; Bauduin, B.; Kieny, M. P.; Lecocq, J. P.; De Bruyn, J.; Costy, F. et al. First Field Trial of Fox Vaccination Against Rabies Using a Vaccinia-Rabies Recombinant Virus. Vet. Rec. 1988, 123, 481—483.
15. Robbins, A. H.; Borden, M. D.; Windmiller, B. S.; Niezgoda, M.; Marcus, L. C.; O'Brien, S. M.; Kreindel, S. M.; McGuill, M. W.; DeMaria, A., Jr.; Rupprecht, C. E.; Rowell, S. Prevention of the Spread of Rabies to Wildlife by Oral Vaccination of Raccoons in Massachusetts. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1998, 213, 1407—1412.
16. Yilma, T.; Hsu, D.; Jones, L.; Owens, S.; Grubman, M.; Mebus, C.; Yamanaka, M.; Dale, B. Protection of Cattle Against Rinderpest with Vaccinia Virus Recombinants Expressing the HA or F Gene. Science 1988, 242, 1058—1061.
17. Yilma, T. Vaccinia Virus Recombinant Vaccines for Rinderpest. Dev. Biol. Standardization 1995, 84, 201—208.
18. Graham, F. L.; Prevec, L. Adenovirus Expression Vectors and Recombinant Vaccines. In Vaccines; New Approaches to Immunological Problems; Ellis, R. W., Ed.; Butterworth-Heinemann: Boston, 1992; 363—390.
19. Imler, J.-L. Adenovirus Vectors as Recombinant Viral Vaccines. Vaccine 1995, 13, 1143—1151.
20. Mittal, S. K.; Papp, Z.; Tikoo, S. K.; Baca-Estrada, M.; Yoo, D.; Benko, M.; Babiuk, L. A. Induction of Systemic and Mucosal Immune Responses in Cotton Rats Immunized with Human Adenovirus Type 5 Recombinants Expressing the Full and Secretory Forms of Bovine Herpesvirus Type 1 Glycoprotein gD. Virology 1996, 222, 299—309.
21. Taylor, J.; Paoletti, E. Pox Viruses as Eukaryotic Cloning and Expression Vectors: Future Medical and Veterinary Vaccines. Prog. Vet. Microbiol. Immunol. 1988, 4, 197—217.
22. Jacobs, W. R.; Snapper, S. B.; Lugosi, L.; Bloom, L.; Bloom, B. R. Development of BCG as a Recombi-

nant Vaccine Vehicle. T-Cell Paradigms in Parasitic and Bacterial Infections. Current Topics in Microbiology and Immunology; Kaufmann, S. H. E., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1990; 155, 153—160.

23. Ryan, E. T.; Crean, T. I.; John, M.; Butterton, J. R.; Clements, J. D.; Calderwood, S. B. Vivo Expression and Immunoadjuvancy of a Mutant of Heat-Labile Enterotoxin of Escherichia coli in Vaccine and Vector Strains Of Vibrio cholerae. Infect. Immun. 1999, 67, 1694—1701.
24. Cardenas, L.; Dasgupta, U.; Clements, J. D. Influence of Strain Viability and Antigen Dose on the Use of Attenuated Mutants of Salmonella as Vaccine Carriers. Vaccine 1994, 12, 833—840.
25. Cardenas, L.; Clements, J. D. Oral Immunization Using Live Attenuated Salmonella Spp. As Carriers of Foreign Antigens. Clin. Microbiol. Rev. 1992, 5, 328—342.
26. Killeen, K.; Spriggs, D.; Mekalanos, J. Bacterial Mucosal Vaccines: Vibrio Cholerae as a Live Attenuated Vaccine/Vector Paradigm, Defence of Mucosal Surfaces: Pathogenesis, Immunity and Vaccines. Current Topics in Microbiology and Immunology; Kraehenbuhl, J. P., Neutra, M. R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1999; 236, 237—254.
27. Nakayamma, K.; Kelly, S. M.; Curtiss, R., III Construction of an ASD$^+$ Expression-Cloning Vector: Stable Maintenance and High Level Expression of Cloned Genes in a Salmonella Vaccine Strain. Biotechnology 1998, 6, 693—697.
28. Gentschev, I.; Hess, J.; Goebel, W. Change in the Cellular Localization of Alkaline Phosphatase by Alteration of Its Carboxy-Terminal Sequence. Mol. Gen. Genetics. 1990, 222, 211—216.
29. Tzschaschel, B. D.; Klee, S. R.; de Lorenzo, V.; Timmis, K. N.; Guzman, C. A. Towards a Vaccine Candidate Against Shigella Dysenteriae 1: Expression of the Shiga Toxin B-subunit in an Attenuated Shigella Flexneri AroD Carrier Strain. Microbial Pathogenesis 1996, 21, 277—288.
30. Kit, S.; Kit, M. Genetically Engineered Herpesvirus Vaccines. Accomplishments in Pigs and Prospects in Humans. Prog. Med. Virol. 1991, 38, 128—166.
31. Kit, S. Genetically Engineered Vaccines for Control of Aujeszky's Disease (Pseudorabies). Vaccine 1990, 8, 420—424.
32. Chatfield, S. N.; Roberts, M.; Dougan, G.; Hormaeche, C.; Khan, C. M. A. The Development of Oral Vaccines Against Parasitic Diseases Utilizing Live Attenuated Salmonella. Parasitology. 1995, 110, S17—S24.
33. Mettenleiter, T. C. New Developments in the Construction of Safer and More Versatile Pseudorabies Virus Vaccines. Dev. Biol. Standardization 1995, 84, 83—87.
34. Kimman, T. G.; Gielkens, A. L. J.; Glazenburg, K.; Jacobs, L.; de Jong, M. C. M.; Mulder, W. A. M.; Peeters, B. P. H. Characterization of Live Pseudorabies Virus Vaccines. Dev. Biol. Standardization 1995, 84, 89—96.
35. Briand, J. P.; Benkirane, N.; Guichard, G.; Newman, J. F.; Van Regenmortel, M. H.; Brown, F.; Muller, S. A Retro-Inverso Peptide Corresponding to the GH Loop of Foot-and-Mouth Disease Virus Elicits High Levels of Long-Lasting Protective Neutralizing Antibodies. Proceedings of the National Academy Science USA 1997, 94, 12545—12550.
36. Brown, F. Foot-and-Mouth Disease and Beyond: Vaccine Design, Past, Present and Future. Arch. Virol. (Suppl) 1999, 15, 179—188.
37. Marciani, D. J.; Kensil, C. R.; Beltz, G. A.; Hung, C. H.; Cronier, J.; Aubert, A. Genetically-Engineered Subunit Vaccine Against Feline Leukaemia Virus: Protective Immune Response in Cats. Vaccine 1991, 9, 89—96.
38. Valenzuela, P.; Medina, A.; Rutter, W. J.; Ammerer, G.; Hall, BD. Synthesis and Assembly of Hepatitis B Virus Surface Antigen Particles in Yeast. Nature 1982, 298, 347—350.
39. Brideau, R. J.; Walters, R. R.; Stier, M. A.; Wathen, M. W. Protection of Cotton Rats Against Human Respiratory Syncytial Virus by Vaccination with a Novel Chimeric FG Glycoprotein. J. Gen. Virol. 1989, 70, 2637—2644.
40. Brideau, R. J.; Oien, N. L.; Lehman, D. J.; Homa, F. L.; Wathen, M. W. Protection of Cotton Rats Against Human Parainfluenza Virus Type 3 by Vaccination with a Chimeric FHN Subunit Glycoprotein. J. Gen. Virol. 1993, 74, 471—477.
41. Kowalski, J.; Gilbert, S. A.; van Drunen-Littel-van den Hurk, S.; van den Hurk, J.; Babiuk, L. A.; Zamb, T. J. Heat-Shock Promoter-Driven Synthesis of Secreted Bovine Herpesvirus Glycoproteins in Transfected Cells. Vaccine 1993, 11, 1100—1107.
42. Ma, J. K.-C.; Vine, N. D. Plant Expression Systems for the Production of Vaccine, Defence of Mucosal Surfaces: Pathogenesis, Immunity and Vaccines. Current Topics in Microbiology and Immunology; Kraehenbuhl, J. P., Neutra, M. R., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1999; 236, 275—292.
43. Ma, J. K.-C.; Hiatt, A.; Hein, M.; Vine, N. D.;

Y

Wang, F.; Stabila, P.; van Dolleweerd, C.; Mostov, K.; Lehner, T. Generation and Assembly of Secretary Antibodies in Plants. Science 1995, 268, 716—719.

44. Haq, T. A.; Mason, H. S.; Clements, J. D.; Arntzen, C. J. Oral Immunization with a Recombinant Bacterial Antigen Produced in Transgenic Plants. Science 1995, 268, 714—716.
45. Carrillo, C.; Wigdorovitz, A.; Oliveros, J. C.; Zamorano, P. I.; Sadir, A. M.; Gomez, N.; Salinas, J.; Escribano, J. M.; Borca, M. V. Protective Immune Responses to Foot-Mouth-Disease Virus with VP1 Expressed in Transgenic Plants. J. Virol. 1998, 72, 1688—1690.
46. Dalsgaard, K.; Uttenthal, A.; Jones, T. D.; Xu, F.; Merryweather, A.; Hamilton, W. D. O.; Langeveld, J. P. M.; Boshuizen, R. S.; Kamstrup, S.; Lomonossoff, G. P.; Porta, C.; Vela, C.; Casal, J. I.; Meloen, R. H.; Rodgers, P. B. Plant-Derived Vaccine Protects Target Animals Against a Viral Disease. Nature Biotechnol. 1997, 15, 248—252.
47. Thanavala, Y.; Yang, Y.-F.; Lyons, P.; Mason, H. S.; Arntzen, C. Immunogenicity of Transgenic Plant-Derived Hepatitis B Surface Antigen. Proceedings of the National Academy Science USA 1995, 92, 2258—3361.
48. Arntzen, C. J.; Mason, H. S.; Shi, J.; Haq, T. A.; Estes, M. K.; Clements, J. D. Production of Candidate Oral Vaccines in Edible Tissues of Transgenic Plants. Vaccines'94: Modern Approaches to New Vaccines Including Prevention of AIDS; Brown, F., Chanock, R. M., Ginsberg, H. S., Lerner, R. A., Eds.; Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor: New York, 1994; 339—344.
49. Zanetti, M.; Secarz, E.; Salk, J. The Immunology of New Generation Vaccines. Immunol. Today 1987, 8, 18—22.
50. Oosterlaken, T. A.; Harmsen, M.; Jhagjhoor-Singh, S. S.; Ekstijn, G. L.; Kraaijeveld, C. A.; Snippe, H. A. Protective Monoclonal Anti-Idiotypic Vaccine to Lethal Semliki Forest Virus Infection in BALB/c Mice. J. Virol. 1991, 65, 98—102.
51. Wolff, J. A.; Malone, R. W.; Williams, P.; Chong, W.; Acsadi, G.; Jani, A.; Felgner, P. L. Direct Gene Transfer into Mouse Muscle In Vivo. Science 1990, 24, 1465—1468.
52. Yang, N. S.; Burkholder, J.; Roberts, B.; Martinell, B.; McCabe, D. In Vivo and In Vitro Gene Transfer to Mammalian Somatic Cells by Particle Bombardment. Proceedings of the National Academy Science USA 1990, 87, 9568—9572.
53. Williams, R. S.; Johnston, S. A.; Riedy, M.; DeVit, M. J.; McElligott, S. G.; Sanford, J. C. Introduction of Foreign Genes into Tissues of Living Mice by DNA-Coated Microprojectiles. Proceedings of the National Academy Science USA 1991, 88, 2726—2730.
54. Felgner, P. L.; Ringold, G. M. Cationic Liposome-Mediated Transfection. Nature 1989, 337, 387—388.
55. Barthel, F.; Remy, J. S.; Loeffler, J. P.; Behr, J. P. Gene Transfer Optimization with Lipospermine-Coated DNA. DNA Cell. Biol. 1993, 12, 553—560.
56. Mathiowitz, E.; Jacob, J. S.; Jong, Y. S.; Carino, G. P.; Chickering, D. E.; Chaturvedi, P.; Santos, C. A.; Vijayaraghavan, K.; Montgomery, S.; Bassett, M.; Morrell, C. Biologically Erodable Microspheres as Potential Oral Drug Delivery Systems. Nature 1997, 386, 410—414.
57. Aggarwal, N.; HogenEsch, H.; Guo, P.; North, A.; Suckow, M.; Mittal, S. K. Biodegradable Alginate Microspheres as a Delivery System for Naked DNA. Can. J. Vet. Res. 1999, 63, 148—152.
58. Mittal, S. K.; Aggarwal, N.; Sailaja, G.; van Olphen, A.; HogenEsch, H.; North, A.; Hays, J.; Moffatt, S. Immunization with DNA, Adenovirus or Both in Biodegradable Alginate Microspheres: Effect of Route of Inoculation on Immune Response. Vaccine , in press.
59. Ulmer, J. B.; Donnelly, J. J.; Parker, S. E.; Rhodes, G. H.; Felgner, P. L.; Dwarki, V. J.; Gromkowski, S. H.; Deck, R. R.; DeWitt, C. M.; Friedman, A. Heterologous Protection Against Influenza by Injection of DNA Encoding a Viral Protein. Science 1993, 259, 1745—1749.
60. Donnelly, J. J.; Ulmer, J. B.; Liu, MA. DNA Vaccines. Life Sci. 1993, 60, 163—172.
61. Lowrie, D. B.; Silva, C. L.; Colston, M. J.; Ragno, S.; Tascon, R. E. Protection Against Tuberculosis by a Plasmid DNA Vaccine. Vaccine 1997, 15, 834—838.
62. Lowrie, D. B.; Tascon, R. E.; Bonato, V. L.; Lima, V. M.; Faccioli, L. H.; Stavropoulos, E.; Colston, M. J.; Hewinson, R. G.; Moelling, K.; Silva, C. L. Therapy of Tuberculosis in Mice by DNA Vaccination. Nature 1999, 400, 269—271.
63. Koprowski, H.; Weiner, D. B. DNA Vaccination/Genetic Vaccination. Current Topics in Microbiology and Immunology; Springer-Verlag: Berlin, 1998; 226.
64. Powell, M. F.; Newman, M. J. Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach; Plenum Press: San Diego, 1995.

65. Stewart-Tull, D. E. S. The Theory and Practical Application of Adjuvants; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 1995.
66. O'Hagan, D. T. Vaccine Adjuvants. Preparation Methods and Research Protocols; Humana Press: Totowa, NJ, 2000; 342.
67. Singh, M.; O'Hagan, D. Advances in Vaccine Adjuvants. Nature Biotechnol. 1999, 17, 1075—1081.
68. Raychaudhuri, S.; Rock, K. L. Fully Mobilizing Host Defenses: Building Better Vaccines. Nature Biotechnol. 1998, 16, 1025—1031.
69. Cleland, J. L. Design and Production of Single-Immunization Vaccines Using Polylactide Polyglycolide Microsphere Systems. Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach; Powell, M. F., Newman, M. J., Eds.; Plenum Press: New York, 1995; 439—462.
70. Rundell, A.; DeCarlo, R.; HogenEsch, H.; Doerschuk, P. The Humoral Immune Response to Haemophilus Influenzae Type B: A Mathematical Model Based on T-Zone and Germinal Center B-Cell Dynamics. J. Theor. Biol. 1998, 194, 341—381.
71. Hem, S. L.; White, J. L. Structure and Properties of Aluminum- Containing Adjuvants. Vaccine Design. The Subunit and Adjuvant Approach; Powell, M. F., Newman, M. J., Eds.; Plenum Press: New York, 19951 249—276.
72. Brewer, J. M.; Conacher, M.; Hunter, C. A.; Mohrs, M.; Brombacher, F.; Alexander, J. Aluminium Hydroxide Adjuvant Initiates Strong Antigen-Specific Th2 Responses in the Absence of IL-4-or IL-13-Mediated Signaling. J. Immunol. 1999, 163, 6448—6454.
73. Jankovic, D.; Caspar, P.; Zweig, M.; Garcia-Moll, M.; Showalter, S. D.; Vogel, F. R.; Sher, A. Adsorption to Aluminum Hydroxide Promotes the Activity of IL-12 as an Adjuvant for Antibody as well as Type 1 Cytokine Responses to HIV-1 GP120. J. Immunol. 1997, 159, 2409—2417.
74. Barr, I. G.; Sjolander, A.; Cox, J. C. ISCOMs and Other Saponin Based Adjuvants. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 32, 247—271.
75. Brokstad, K. A.; Cox, R. J.; Olofsson, J.; Jonsson, R.; Haaheim, L. R. Parenteral Influenza Vaccination Induces a Rapid Systemic and Local Immune Response. J. Infect. Dis. 1995, 171, 198—203.
76. Shroff, K. E.; Marcucci-Borges, L. A.; de Bruin, S. J.; Winter, L. A.; Tiberio, L.; Pachuk, C.; Snyder, L. A.; Satishchandran, C.; Ciccarelli, R. B.; Higgins, T. J. Induction of HSV-gD2 Specific CD4 (+) Cells in Peyer's Patches and Mucosal Antibody Responses in Mice Following DNA Immunization by Both Parenteral and Mucosal Administration. Vaccine 1999, 18, 222—230.
77. Fontanilla, B. C.; Silvano, F.; Cumming, R. Oral Vaccination Against Newcastle Disease of Village Chickens in the Philippines. Prev. Vet. Med. 1994, 19, 39—44.
78. Lundholm, P.; Asakura, Y.; Hinkula, J.; Lucht, E.; Wahren, B. Induction of Mucosal IgA By a Novel Jet Delivery Technique for HIV-1 DNA. Vaccine 1999, 17, 2036—2042.
79. McCluskie, M. J.; Brazolot Millan, C. L.; Gramzinski, R. A.; Robinson, H. L.; Santoro, J. C.; Fuller, J. T.; Widera, G.; Haynes, J. R.; Purcell, R. H.; Davis, H. L. Route and Method of Delivery of DNA Vaccine Influence Immune Responses in Mice and Non-Human Primates. Mol. Med. 1999, 5, 287—300.
80. Langue, J.; Ethevenaux, C.; Champsaur, A.; Fritzell, B.; Begue, P.; Saliou, P. Safety and Immunogenicity of Haemophilus Influenzae Type B-Tetanus Toxoid Conjugate, Presented in a Dual-Chamber Syringe with Diphtheria-Tetanus-Pertussis and Inactivated Poliomyelitis Combination Vaccine. Eur. J. Pediatr. 1999, 158, 717—722.
81. Kanra, G.; Yurdakok, K.; Ceyhan, M.; Ozmert, E.; Turkay, F.; Pehlivan, T. Immunogenicity and Safety of Haemophilus Influenzae Type B Capsular Polysaccharide Tetanus Conjugate Vaccine (PRP-T) Presented in a Dual-Chamber Syringe with DTP. Acta Paediatr. Jpn. 1997, 39, 676—680.
82. Roberts, M.; Chatfield, S. N.; Dougan, G. Salmonella as Carriers of Heterologous Antigens, In Novel Delivery Systems for Oral Vaccines; O'Hagan, D. T., Ed.; CRC Press Inc.: Ann Arbor MI, 1994; 27—58.
83. McGhee, J. R.; Mestecky, J.; Dertzbaugh, M. T.; Eldridge, J. H.; Hirasawa, M.; Kiyono, H. The Mucosal Immune System: From Fundamental Concepts to Vaccine Development. Vaccine 1992, 10, 75—88.
84. Hornquist, E.; Lycke, N.; Czerkinsky, C.; Holmgren, J. Cholera Toxin and Cholera B Subunit as Oral-Mucosal Adjuvant and Antigen Carrier Systems. Novel Delivery Systems for Oral Vaccines; O'Hagan, D. T. Ed.; CRC Press, Inc.: Ann Arbor MI, 1994; 157—173.
85. Service, R. F. Triggering the First Line of Defense. Science 1994, 265, 1552—1554.
86. Heritage, P. L.; Underdown, B. J.; Brook, M. A.; McDermott, M. R. Oral Administration of Polymer-Grafted Starch Microparticles Activates Gut-Associated Lymphocytes and Primes Mice for a Subsequent Systemic

Y

Antigen Challenge. Vaccine 1998, 16, 2010—2017.

87. Dale, J. W.; Dellagostin, O. A.; Norman, E.; Barrett, A. D. T.; McFadden, J. Multivalent BCG Vaccines. Novel Delivery Systems for Oral Vaccines; O'Hagan, D. T. Ed.; CRC Press, Inc.: Ann Arbor, MI, 1994; 87—109.
88. Dunkley, M. L.; Harris, S. J.; McCoy, R. J.; Musicka, M. J.; yers, F. M.; Beagley, L. G.; Lumley, P. J.; Beagley, K. W.; Clancy, R. L. Protection Against Helicobacter pylori Infection by Intestinal Immunisation with a 50/52-kDa Subunit Protein. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999, 24, 221—225.
89. Corthesy-Theulaz, I.; Porta, N.; Glauser, M.; Saraga, E.; Vaney, A. C.; Haas, R.; Kraehenbuhl, J. P.; Blum, A. L.; Michetti, P. Oral Immunization with Helicobacter pylori Urease B Subunit as a Treatment Against Helicobacter Infection in Mice. Gastroenterology 1995, 109, 115—121.
90. Husby, S.; Jensenius, J. C.; Svehag, S. -E. Passage of Undegraded Dietary Antigen into the Blood of Healthy Adults. Further Characterization of the Kinetics of the Uptake and the Size Distribution of the Antigen. Scand. J. Immunol. 1986, 24, 447—455.
91. Eaton, K. A.; Krakowka, S. Chronic Active Gastritis Due to Helicobacter pylori in Immunized Gnotobiotic Piglets. Gastroenterology 1992, 103, 1580—1586.
92. Ball, J. M.; Graham, D. Y.; Opekun, A. R.; Gilger, M. A.; Guerrero, R. A.; Estes, M. K. Recombinant Norwalk Virus-Like Particles Given Orally to Volunteers: Phase I Study (see Comments). Gastroenterology 1999, 117, 40—48.
93. Foster, N.; Clark, M. A.; Jepson, M. A.; Hirst, B. H. Ulex Europaeus 1 Lectin Targets Microspheres to Mouse Peyer's Patch M-Cells In Vivo. Vaccine 1998, 16, 536—541.
94. Eyles, J. E.; Williamson, E. D.; Alpar, H. O. Immunological Responses to Nasal Delivery of Free and Encapsulated Tetanus Toxoid: Studies on the Effect of Vehicle Volume. Int. J. Pharm. 1999, 189, 75—79.
95. Rudin, A.; Riise, G. C.; Holmgren, J. Antibody Responses in the Lower Respiratory Tract and Male Urogenital Tract in Humans After Nasal and Oral Vaccination with Cholera Toxin B Subunit. Infect. Immun. 1999, 67, 2884—2890.
96. Shi, Z.; Curiel, D. T.; Tang, D. C. DNA-based Noninvasive Vaccination Onto the Skin. Vaccine 1999, 17, 2136—2141.
97. Misra, A.; Ganga, S.; Upadhyay, P. Needle-Free, Nonadjuvanted Skin Immunization by Electroporation-Enhanced Transdermal Delivery of Diphtheria Toxoid and a Candidate Peptide Vaccine Against Hepatitis B Virus. Vaccine 1999, 18, 517—523.
98. Scharton-Kersten, T. M.; Glenn, G.; Vassell, R.; Yu, J.; Walwender, D.; Alving, C. R. Principles of Transcutaneous Immunization Using Cholera Toxin as an Adjuvant. Vaccine, Suppl 17 1999, 2, s37—43.
99. Glenn, G. M.; Scharton-Kersten, T.; Vassell, R.; Matyas, G. R.; Alving, C. R. Transcutaneous Immunization with Bacterial ADP-Ribosylating Exotoxins as Antigens and Adjuvants. Infect. Immun. 1999, 67, 1100—1106.
100. Glenn, G. M.; Scharton-Kersten, T.; Vassell, R.; Mallett, C. P.; Hale, T. L.; Alving, C. R. Transcutaneous Immunization with Cholera Toxin Protects Mice Against Lethal Mucosal Toxin Challenge. J. Immunol. 1998, 161, 3211—3214.
101. Brown, A. R.; George, D. W.; Matteson, D. K. Vaccinator Device for Delivering Propellant-Driven Aerosols of Streptococcus suis Bacterin into the Respiratory Tracts of Swine. Vaccine 1997, 15, 1165—1173.
102. LiCalsi, C.; Christensen, T.; Bennett, J. V.; Phillips, E.; Witham, C. Dry Powder Inhalation as a Potential Delivery Method for Vaccines. Vaccine 1999, 17, 1796—1803.
103. McCluskie, M. J.; Chu, Y.; Xia, J. L.; Jessee, J.; Gebyehu, G.; Davis, H. L. Direct Gene Transfer to the Respiratory Tract of Mice with Pure Plasmid and Lipid-Formulated DNA. Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 1998, 8, 401—414.
104. Weng, C. N.; Tzan, Y. L.; Liu, S. D.; Lin, S. Y.; Lee, C. J. Protective Effects of an Oral Microencapsulated Mycoplasma hyopneumoniae Vaccine Against Experimental Infection in Pigs. Res. Vet. Sci. 1992, 53, 42—46.
105. Forrest, B. D. Clinical Evaluation of Attenuated Salmonella typhi Vaccines in Human Subjects. Novel Delivery Systems for Oral Vaccines; O'Hagan, D. T., Ed.; CRC Press, Inc.: Ann Arbor, MI, 1994; 59—85.
106. Crotty, S.; Lohman, B. L.; Lu, F. X.; Tang, S.; Miller, C. J.; Andino, R. Mucosal Immunization of Cynomolgus Macaques with Two Serotypes of Live Poliovirus Vectors Expressing Simian Immunodeficiency Virus Antigens: Stimulation of Humoral, Mucosal, and Cellular Immunity. J. Virol. 1999, 73, 9485—9495.
107. Aunins, J. G.; Lee, A. L.; Volkins, D. B. Vaccine Production. The Biomedical Engineering Handbook; Bronzino, J. D., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1995; 1502—1517.
108. Bussiere, J. L.; McCormick, G. C.; Green, J. D.

Preclinical Safety Assessment Considerations in Vaccine Development. Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach; Powell, M. F., Newman, M. J., Burdman, J. R., Eds.; Plenum Press: New York, 1995; 61—79.

109. Lawrence, D. N.; Goldenthal, K. L.; Boslego, J. W.; Chandler, D. K. F.; La Montagne, J. R. Public Health Implications of Emerging Vaccine Technologies. Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach; Powell, M. F., Newman, M. J., Burdman, J. R., Eds.; Plenum Press: New York, 1995; 43—60.

110. O'Hagan, D. T. Microparticles as Oral Vaccines. In Novel Delivery Systems for Oral Vaccines; CRC Press, Inc.: Ann Arbor, MI, 1994; 175—205.

111. Morris, W.; Steinhoff, M. C.; Russell, P. K. Potential of Polymer Microencapsulation Technology for Vaccine Innovation. Vaccine 1994, 12, 5—11.

112. Kuntz, R. M.; Saltzman, W. M. Polymeric Controlled Delivery for Immunization. Trends Biotechnol. 1997, 15, 364—369.

113. Desai, M. P.; Labhasetwar, V.; Amidon, G. L.; Levy, R. J. Gastrointestinal Uptake of Biodegradable Microparticles: Effect of Particle Size. Pharm. Res. 1996, 13, 1838—1845.

114. Casal, J. I.; Rueda, P.; Hurtado, A. Parvovirus-Like Particles as Vaccine Vectors. Methods 1999, 19, 174—186.

115. Liu, X. S.; Abdul-Jabbar, I.; Qi, Y. M.; Frazer, I. H.; Zhou, J. Mucosal Immunisation with Papillomavirus Virus-Like Particles Elicits Systemic and Mucosal Immunity in Mice. Virology 1998, 252, 39—45.

116. Nakanishi, T.; Kunisawa, J.; Hayashi, A.; Tsutsumi, Y.; Kubo, K.; Nakagawa, S.; Nakanishi, M.; Tanaka, K.; Mayumi, T. Positively Charged Liposome Functions as an Efficient Immunoadjuvant in Inducing Cell-Mediated Immune Response to Soluble Proteins. J. Controlled Rel. 1999, 61, 233—240.

117. Hayashi, A.; Nakanishi, T.; Kunisawa, J.; Kondoh, M.; Imazu, S.; Tsutsumi, Y.; Tanaka, K.; Fujiwara, H.; Hamaoka, T.; Mayumi, T. A Novel Vaccine Delivery System Using Immunopotentiating Fusogenic Liposomes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1999, 261, 824—828.

118. Lasic, D. D. Liposomes in Gene Delivery; CRC Press: Boca Raton, FL, 1997; 67—112.

119. Cryz, S. J. BERNA: A Century of Immunobiological Innovation. Vaccine 1999, 17, S1—S5.

120. Poltl-Frank, F.; Zurbriggen, R.; Helg, A.; Stuart, F.; Robinson, J.; Gluck, R.; Pluschke, G. Use of Reconstituted Influenza Virus Virosomes as an Immunopotentiating Delivery System for a Peptide-Based Vaccine. Clin. Exp. Immunol. 1999, 117, 496—503.

121. Rentel, C. O.; Bouwstra, J. A.; Naisbett, B.; Junginger, H. E. Niosomes as a Novel Peroral Vaccine Delivery System. Int. J. Pharm. 1999, 186, 161—167.

122. St Clair, N.; Shenoy, B.; Jacob, L. D.; Margolin, A. L. Cross-Linked Protein Crystals for Vaccine Delivery. Proc. Natl. Acad. Sc. USA 1999, 96, 9469—9474.

123. Thompson, C. B.; Allison, J. P. The Emerging Role of CTLA-4 as an Immune Attenuator. Immunity 1997, 7, 445—450.

124. Abrams, J. R.; Lebwohl, M. G.; Guzzo, C. A.; Jegasothy, B. V.; Goldfarb, M. T.; Goffe, B. S.; Menter, A.; Lowe, N. J.; Krueger, G.; Brown, M. J.; Weiner, R. S.; Birkhofer, M. J.; Warner, G. L.; Berry, K. K.; Linsley, P. S.; Krueger, J. G.; Ochs, H. D.; Kelley, S. L.; Kang, S. W. CTLA4Ig-Mediated Blockade of T-Cell Costimulation in Patients with Psoriasis Vulgaris. J. Clin. Invest. 1999, 103, 1243—1252.

125. Kwon, E. D.; Foster, B. A.; Hurwitz, A. A.; Madias, C.; Allison, J. P.; Greenberg, N. M.; Burg, M. B. Elimination of Residual Metastatic Prostate Cancer After Surgery and Adjunctive Cytotxic T Lymphocyte-Associated Antigen 4 (CTLA-4) Blockade Immunotherapy. Proceedings of the National Academy Science USA 1999, 96, 15074—15079.

126. Abbas, A. K.; Sharpe, A. H. T-cell Stimulation: An Abundance of B7s. Nature Med. 1999, 5, 1345—1346.

127. Krieg, A. M.; Yi, A.-K.; Hartmann, G. Mechanisms and Therapeutic Applications of Immune Stimulatory CpG DNA. Pharmacol. Therapeutics 1999, 84, 113—120.

128. Hall, G. L.; Compston, A.; Scolding, N. J. Beta-Interferon and Multiple Sclerosis. Trends Neurosci. 1997, 20, 63—67.

129. Yong, V. W.; Chabot, S.; Williams, G. Interferon Beta in the Treatment of Multiple Sclerosis. Mechanisms of Action. Neurology 1998, 51, 682—689.

130. Moreland, L. W. Inhibitors of Tumor Necrosis Factor for Rheumatoid Arthritis. J. Rheumatol. 1999, 57, 7—15, Suppl. 26.

131. Sandborn, W. J.; Hanauer, S. B. Antitumor Necrosis Factor Therapy for Inflammatory Bowel Disease: A Review of Agents, Pharmacology, Clinical Results, and Safety. Inflamm. Bowel Dis. 1999, 5, 119—133.

（罗宏伟 译）

Y

影响口服药物输送的生理学因素

Clive G. Wilson
Bridget O'Mahony
Blythe Lindsay
University of Strathclyde, Glasgow, United Kingdom

引言

靶向及缓、控释制剂在商业中被成功应用的 30 年来，很明显，药物输送领域仍需要进一步的改革与完善。许多大公司将目光集中于采用新技术，以此来延长产品的生命周期，然而，在许多情况中，溶解性与渗透性问题限制了这些技术的应用。个体之间与个体自身疾病发生率的差异、依从性以及生物钟的不同，导致了并发症的产生。

差异的产生有很多原因，了解能够预知对疗效可能产生影响的因素非常关键，它可以使某些治疗方法比其他方法更好地用于一些个体的治疗。本章对文献以及我们自己的研究中的一些例子进行探讨，希望能够阐明生理因素如何影响疾病的治疗。

口服药物的输送

通常情况下，口服药物是最经济、最方便的定量给药方式。然而，很难通过这种给药方式达到准确控制血浆浓度与时间曲线的目的，这是由于药物经过胃肠道时，即使在严格控制的临床试验条件下，个体之间以及个体自身也会有显著差异。每日进食种类、活动以及身体状态，对这种差异有很大的影响。有些药物仅在胃肠道的特定区域被吸收，也就是说，有一个狭窄的“吸收窗”，它对药物输送的影响非常大。这些差异主要取决于进食和饮水的量。

在西方国家，成年人平均每天消耗与排泄的液体在 1.5～2.5L。液体以饮料或者食物中的流体成分被摄入，所摄入饮料的量与日进食量中的含盐量密切相关。另外，代谢过程每天生成约 350mL 的水。水每天在消化道（分泌与吸收）上皮组织的流通量约为 9L，由于流量巨大，我们可以猜测，人体内大多数的腔道中都含有过量的水。

然而，事实并非如此，消化道中的某些环境是潮湿的而不完全是湿的。例如，口咽、食管以及大肠的绝大部分都是如此。这种缺少水分的环境，也增大了药物传送到这些部位的差异。

食道的转运

制剂首先通过食管然后到达胃部。食管是一根 25～30cm 长的潮湿的空管。通常假设吞咽下的各种剂型的药物毫无障碍地到达胃部，除非食管有问题。60 岁以上的健康受试者中，有 60%的人报告说在吞咽完整的药片时出现了问题[1]。为了帮助吞咽药片，患者们经指导，在服用药物的同时，饮用一定量的水。希望简单的鼓励和教育能提高顺应性。事实上，给患者一杯 240mL 的水，指导其正常吞下药片，他们仅仅会饮入 2/3 口（50～100mL）。图 1 表示，患者服用一片安慰剂所饮用的水量的不同。数据显示患者们不愿意遵从医生或者药剂师的指导。

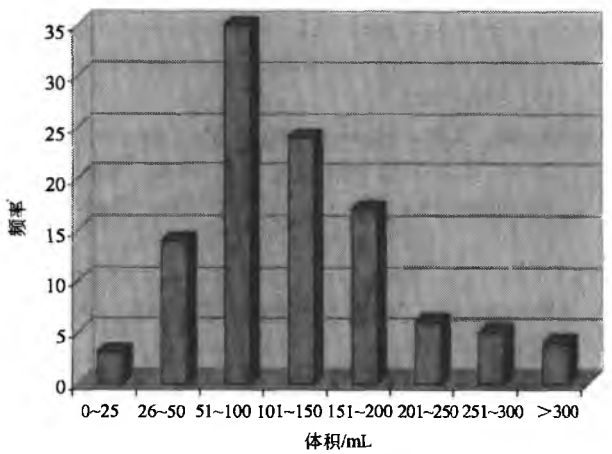


图 1 服用胶囊时饮水的体积

饮水和姿势被认为是避免食管发生“药物性损伤”的重要因素。这种情况通常是由于药物具有刺激性、强酸性或者强碱性导致的，如 NSAIDS、氯化钾、铁盐、四环素以及利福平[2~4]。如果药片没有用水送服，或者当药物不完整时，就会有药物滞留在食管内下三分之一处的危险。当药物开始溶解时，会导致黏膜损伤，局部产生很高的药物浓度，使表面上皮细胞脱水。另外，某些药物成分还可与组织表面形成很强的生物黏附力而延长药物滞留时间。

尽管临床试验中会仔细监控正确使用剂量，但药物在食管的滞留仍时有发生。图 2 表示一名年轻志愿者在给予用放射性同位素标记的硬明胶胶囊止痛药后，药物在食管的滞留情况。有受试者接受了两种剂量的用放射性同位素标记的药物。第一种剂量的药物被正常地清除，而第二种剂量则有药物黏附在食管下段三分之一处，导致其血中扑热息痛的最大浓度与其他志愿者相比大大降低了（图 3）。

随着年龄的增长，人们吞咽各种剂型的能力出现了问题。在诺丁汉皇家医学中心进行的一系列研究发现，老年

患者吞咽硬胶囊很困难。这表明其缺乏调节咽部对水和胶囊的反射作用方面的能力[5,6]。

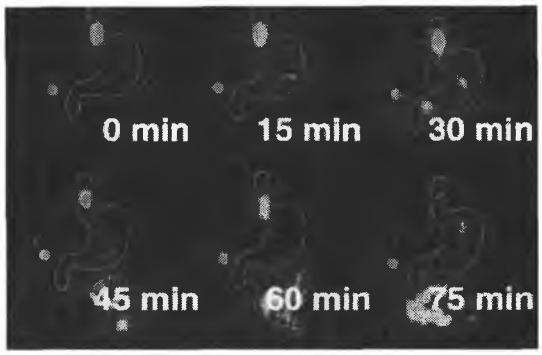


图 2 放射性同位素标记的硬明胶胶囊滞留在食管

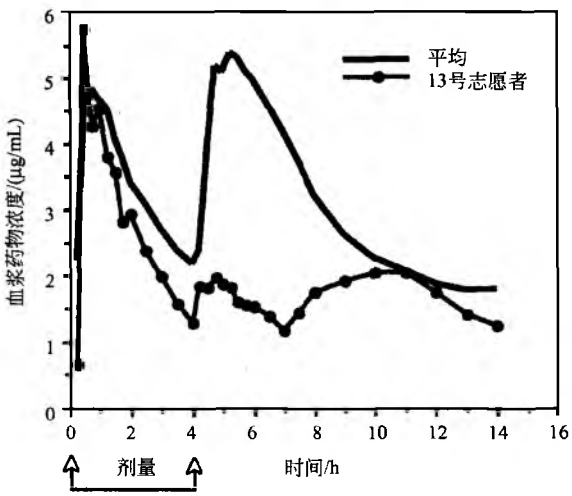


图 3 第二次剂量后血浆中峰浓度下降

胃的排空

胃的排空过程是极为复杂的，而且受到很多因素的影响，如食物的存在、食物的量、pH 以及食物的状态。大多数药物不从胃中吸收，因此需要依赖胃的排空作用将它们送入到吸收部位。因此，胃排空的过程及影响因素已被广泛研究，并且已有很多相冲突的观点的报道。

胃存在进食与禁食两种状态。排空的胃大约有 50mL 的容量，而装满食物时，可以达到 1L 的容量。制剂的命运依赖于服药时胃的状态。

在进食状态下，胃内环境随食物的内容而改变。饮食习惯并不取决于人种和地区，而取决于个人习惯，且每天的变化都很大。比较常规的饮食习惯是平均每天摄取 3～4kg 的食物和水，另外每天还会有约 5L 的液体，比如唾液、胃液、胰液以及其他体液进入胃。胃中的液-固内容物是决定所摄物质命运的关键因素。液体与固体食物有各自不同的排空方式。进食后，在胃中固体食物开始排空前，液体食物首先以一级动力学方式排空。

胃担当小肠的滤网和卡路里调节器。因而，进食大量食物碎块或者高密度营养物质，会延长胃的排空时间，也就会延迟药物到达小肠的时间。小药片和小丸与胃中的食物混合并且随食物排空，但是大的不能崩解的药片依赖于空腹状态时的动力 MMC（使食物通过胃肠道的动力的形式）将它们从胃中排空。如果持续进食使胃保持饱腹状态，那么较大的剂型就会在这段时间内保留在胃中。

通常患者被告知不能空腹用药，但是这个说明是不确切的，会被患者理解为餐前、餐中或者餐后立即服药。O'Reilly 和同事们[7]证明，餐前服用多微粒制剂，胃的初始排空速率比那些在餐中或餐后服用的更快。

胃的排空遵循一定的生理节奏，下午比上午的排空速度慢。这种变化是非常显著的：Ghoo 与同事们的研究表明，晚上胃能排空的固态食物减少 50%以上[8]。这种禁食的运动模式在晚上自动建立起来，因为这段时间通常是不进食的最长时期。MMC 在清晨频率最高。MMC 的变化可能使口服药物输送产生巨大的生理变异。

脂肪与胃的均质性

食物中脂肪的成分即使不是最重要的，也是其中一种影响胃排空速度的因素。脂肪在胃中会分解，并且根据个人的姿势不同，如直立、仰卧、倾斜，或者向一边侧卧，在幽门至十二指肠区域不同量的脂肪会形成不同的层。由于消化的脂肪对胃的排空有显著的抑制作用，因此会发生不同程度的延迟。Brown 和同事们发现，脂肪在近胃处远离幽门的地方迅速分层，因此会延迟胃的排空[9]。中老年人中胃排空受脂质影响而发生延迟的现象有所增加[10]。

如果进食的是切碎的肉，脂肪会在胃中更均匀地散开。Edelbroek 和同事们给志愿者分别服用含有和不含有切碎牛肉的饭，并用^{99m}Tc-硫氰酸盐标记饭中的脂肪部分，来比较胃的排空和汤内的油脂在胃内的分布情况[11]。结果显示，油-汤餐中油脂的排空速度，约是其在油-汤-切碎牛肉餐中排空速度的两倍。这个结果表明，在饭中加入预先分散的固态物质，会导致油脂在胃内的分布出现较大的不同。

如果脂肪用于煎炸食物而不是以不加热的油脂的形式被摄取的话，同样成分的食物在胃中的滞留时间将会延长。胃中油类的行为也受到食物中其他组分的影响。脂肪对胃排空以及营养物质吸收的影响，取决于脂肪被消化时与食物中其他成分的关系。

碳水化合物与胃的均质性

我们实验室在考察小体积、充满油脂的软胶囊药物的吸收时，发现一个可变的生物利用度曲线。用^{99m}Tc 标记胶囊显示，在进食以碳水化合物（如三明治）为主的饮食后用水服用药物，药物迅速从十二指肠排空。核磁共振成像（MRI）技术也可用于研究这一特殊行为。在这项研究中，

药物无需标记，因为用闪光序列 T1 可以很容易地将油脂与胃的其他内容物区分开来。

在临床试验中，受试者们在吃过一个三明治后立即服用充满油脂的胶囊，并且受试者们保持侧卧姿势。图 4 显示，在人体的腹部上方交叉截面可以清楚地看到，三明治块通过幽门腔变成了一个“小块面团”。通过咀嚼使被摄取的食物变软以帮助消化。虽然唾液分泌的最大速度小于 5mL/min，但是面包可以被充分地软化。这个湿润的小圆块被吞下，胃接下来作用是使物块变实。最终，物质与水结合以小球状分散开来。图像显示饭后服用的一粒小而轻的明胶胶囊是从碳水化合物块中冲出来而出现在胃中的。这一现象经 γ 闪烁扫描成像研究所证实。

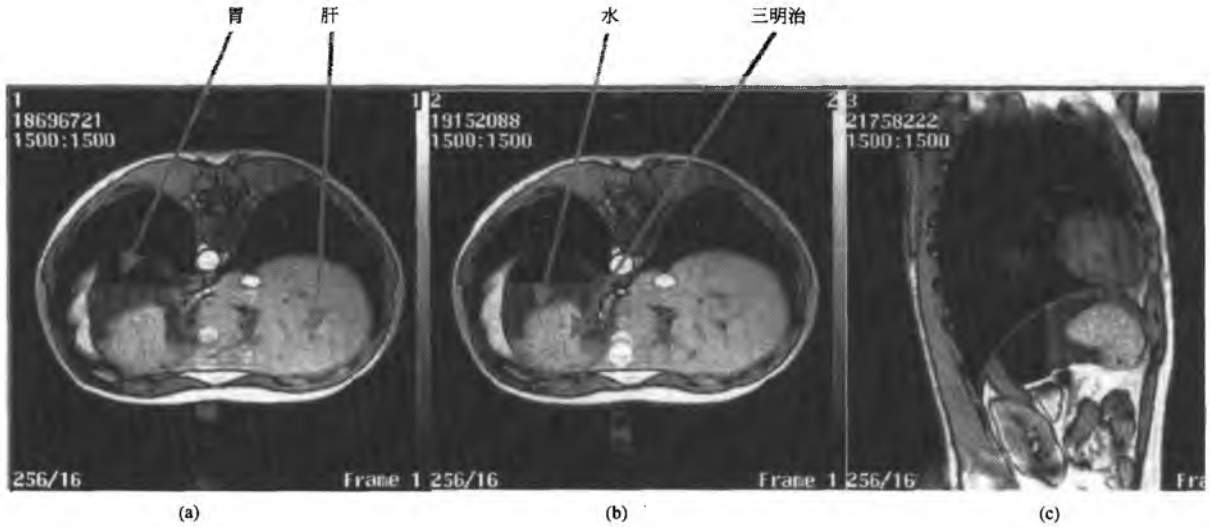


图 4 核磁共振成像技术显示的面包在上消化道被压缩直至成面团的过程。(a) 和 (b) 为水平向；(c) 为前后向

姿势和重力对胃排空的影响

许多研究已经证实了身体姿势的改变能够影响食物在胃中的排空速度以及药物的吸收特征。与坐着相比，躺下会降低胃排空速度，而坐着与站着相结合会使胃排空达到最大的速度。与直立或是挺直坐着相比，当受试者躺下时，温和的不含缓冲剂的液体，以及小球制剂从胃中排空的速度会更慢些。对于漂浮制剂，比如具有类似木筏结构的海藻酸盐，其排空速度比食物在左卧或仰卧的人体内排空的速度要快，但是比制剂处于更加弯曲处的右卧的人的排空速度要慢。当受试者处于左卧时，漂浮制剂比食物先出现于幽门处，因此首先被排空。

当受试者们站立或者右卧时，可溶性复方制剂扑热息痛和硝苯地平血药浓度的达峰时间比左卧时显著减小[12]。这些姿势也导致硝苯地平的血药浓度显著升高以及药时曲线下面积显著增大。

性别与怀孕

目前已经研究了性别与月经周期对胃肠道转运的影响。据报道，对于无论是固体还是液体物质，女性的胃排空速度均比男性的慢[13]。研究还显示，服用雌激素与黄体酮替代物的绝经前以及绝经后的女性的胃排空液体物质的速度比男性慢。然而，当绝经前以及绝经后的女性服用激素替代物治疗时，胃排空液体物质的速度变慢，而不服用激素的绝经后女性与男性的胃排空液体物质的速度则较相似[14]。另据研究显示，当女性处于月经周期的排卵期时，胃排空速度会加快。

对于女性，怀孕可以彻底改变药物在胃肠道某个区域的转运行为，但是不会使胃排空延长[15]。50%～90%怀孕的女性会发生恶心和呕吐，可能会很严重，以至于需要住院治疗以防止脱水。通常怀孕的女性会患有胃灼热和便秘，这可归因于食管括约肌压力的减小和结肠动力的减弱[16]。

社会因素——吸烟与饮酒

闪烁扫描研究未能阐明吸烟对于胃肠道转运的影响。据报道，吸烟或者咀嚼尼古丁口香糖，不会影响食道转运或者液体物质的排空速度，然而，固体物质的排空会延迟[17]。其他关于液体与固体物质排空延迟方面的研究报道称与胃内部固体物质从远端胃到近端胃的倒退运动周期延长相关[18,19]。这表明，胃一旦开始收缩，会造成窦功能损伤，并且（或者）造成幽门与十二指肠窦缺乏协调性。

威士忌之类的烈性酒会延迟胃排空。一项研究显示，与其他含相同浓度酒精的酒比起来，饮用啤酒与白葡萄酒可以显著加速胃排空[20]。这意味着，这一作用应归因于啤酒和白葡萄酒中的其他化合物而不是酒精。长时间酗酒的人中，有 24%的人胃排空被延迟[21]。最后，吸烟会延迟酒精的排空，这预示着社会行为可能会产生复杂的相互

作用[22]。

小肠吸收、食物与赋形剂

小肠是摄取营养和吸收药物的主要消化器官。它是一根长约 5 m、盘绕着的管状器官，包括三个区域：十二指肠、空肠与回肠。在有食物的情况下，小肠收缩，酶和分泌的消化液将食糜混合，用肠黏膜使内容物流动以帮助接触，最终将内容物推进大肠。消化主要发生在空肠与回肠，当食糜进入盲肠时，大部分蛋白质和脂肪已被消化。多种技术测定显示，男性小肠的转运时间约为 4h。

食物中的成分可以通过影响药物的溶解性来改变药物的吸收。最新调查显示，诸如西柚汁之类的饮料可以通过降低肠代谢，而增大某些药物的生物利用度[23]。当药物极易溶解于食物成分中时，药物在消化道的溶解性也能被加强。37℃时，抗凝血剂在脱脂牛奶中的溶解性比在缓冲液中高出 5 倍。这种溶解度与生物利用度的增大，归因于牛奶蛋白质中主要的酪蛋白。伴随着食物的摄入，灰黄霉素的吸收也被加强，特别是在摄取了高脂肪食物后。这种生物利用度的提高，可能是由于胆汁分泌增加以及胃排空延长的结果。

药物赋形剂，如甘露醇，能够影响小肠的转运，也能因此影响某些药物的吸收。虽然口服溶液剂很少会达不到相应的固体制剂的生物等效性，但含有焦磷酸钠（SAPP）的雷尼替丁泡腾口服溶液制剂的研制过程中发现雷尼替丁液体制剂的吸收程度比传统的口服药片的吸收程度显著降低。该制剂中含有 1132mg SAPP、150mg 雷尼替丁和 1.5MBq 氯化^{111}铟溶解物。使用了药物赋形剂后，小肠转运时间降低到 56%。小肠的快速转运，加上溶液剂的赋形剂，导致雷尼替丁吸收的减少[24]。

不论是空腹还是饱腹状态，物质的肠转运高度依赖于胃肠道的运动状态，因为食糜具有很强的黏性。Blair 和同事们对 20 名男性（每日摄入 1272～5342 kcal 的能量）进行了研究，发现摄入的热量越高，肠转运速度越快[25]。适度运动对肠转运没有表现出任何影响。

结肠的环境

在小肠末端，沉积作用基本完成，不需要小肠分泌物帮助消化了。结肠的主要作用是水与钠的重吸收；然而，来源于植物的复杂的碳水化合物虽含有营养价值，但却能抵抗小肠分泌物。盲肠中复杂的细菌环境会消化可溶的发酵性的碳水化合物，以生成短链的脂肪酸，脂肪酸与植物提供的维生素 K 一同在盲肠被吸收入体循环。

复杂的碳水化合物为该环境提供了一种黏稠的水凝胶状结构，随着水分的脱去，逐渐产生了大量被未消化的碳水化合物（纤维素）束缚的细菌，以形成大便。水凝胶结构的存在，软化了物质，也为分解提供了水。释放的二氧化碳也是发酵的产物，如果氧化还原电位足够低，细菌也能产生甲烷和氢气，可以通过测定呼气中的成分来确定，尤其是进食豆类食物后将尤为明显。人处于直立状态时，气体会上升到结肠横断。据估计，一个成年人每天会由 20g 可发酵的纤维结构物质产生 2～3L 的气体（大部分在呼吸中被排除）[26]。大体积气体的存在意味着限制经过肝弯曲部分的水的利用率，其可能导致的结果需引起高度重视。

药物制剂在近结肠处滞留 10～12h，并且在下降段的结肠正面 S 形区域滞留 12h，使整个结肠的转运时间为24～48 h。在大肠中的相对滞留时间与饮食方式密切相关。先前饱腹的人在用过午餐后，大肠会产生显著的运动，药物制剂从上升段移动到下降段的结肠。麸皮中的食物纤维、全麦面包、水果以及蔬菜会减少结肠的转运时间，但会通过担当结肠细菌代谢的酶来增加排泄量。例如，每天增加 20g 麸皮会使排泄物增加 127%，并且可以降低平均转运时间，从 73h±24h 到 43h±7h[27]。而以进食卷心菜、胡萝卜或者苹果的方式提供等量纤维物质，则产生的作用则要小些。

结肠环境改变的作用

给健康的受试者服用如乳果糖类渗透性泻药，会增加排便频率，产生一种可逆的综合病症，酷似过敏性大肠综合征。每日三次服用 20mL 乳果糖会引起大便中水含量的增加[28]。为了分析这种环境对药物转运的作用，我们给予乳果糖[29]治疗的三天后，给予脉冲释放单位，内含二盐酸奎宁（50mg）。

在乳果糖治疗后，血药浓度-时间曲线显示了更快的 T_{max} 和更高的 c_{max}，并且 AUC 也增加了（图 5），这意味着吸收显著增强了。统计结果显示结肠中水的含量对于人体（药物）吸收程度起着重要作用。这一现象对脉冲释药系统尤为重要，因为其外部常常包裹着一层非渗透性物质。经过上升段结肠时的缓慢混合以及水的低利用率，能够确保给药系统中药物的有效释放。

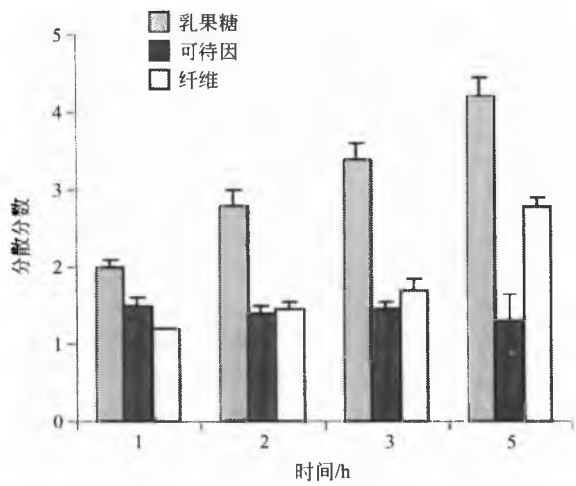


图 5　脉冲塞囊中剂量为 50mg 的二盐酸奎宁在同时服用可待因和乳果糖时的平均血药浓度变化

Y

疾病对胃肠道转运的影响

各种疾病状况对食道的转运时间起反作用，例如，贲门弛缓不能症[30]、硬皮病、食道癌、Barrett 食道病、颈椎牵引[31]、左心增大以及食管倒流等。食道功能的异常，会导致各种疾病，如慢性酒精中毒以及糖尿病[32]。

虽然会产生诸如神经性疾病的糖尿病等也能够改变胃肠道转运，对胃动力和胃排空的影响最大的疾病还是来自胃肠道本身。能够加速胃肠道转运的疾病，会降低控释制剂中药物的生物利用度；相反，能够减缓胃肠道转运的疾病，则可以增加药物吸收。由于可能出现药物局部浓度过高，所以，药物在一特定部位蓄积或者停滞，通常都会受到关注。特别是胃动力的抑制，被广泛认为是很多急性疾病的结果，如任何器官的剧烈疼痛、外伤、传染病以及代谢紊乱等。

一些疾病仅仅影响胃排空的一个阶段。通常十二指肠溃疡会加速胃排空，而胃溃疡降低窦动力，液体排空正常，而固体的排空被延迟。患有贫血以及萎缩性胃炎的患者的固体物质排空被延缓，但是胃酸缺乏的患者的液体排空很快。

胃-食道的逆流是较常见的疾病，影响着 10%～20%的人口，虽然有很大部分的患者进行自治，但是据推测该疾病的影响范围相当大。由于一些研究报告说这种疾病对胃排空没有影响，同时另外一些研究证实其能够延缓胃排空，因此这种疾病对胃排空的影响还不清楚。很可能混合型食物中的固体的排空是选择性地被延迟，暗示着窦动力被削弱。这会使液体、小药丸和片剂的排空与正常人的有很大差异。

还有一些关于肥胖影响胃肠道转运的报道，但结论有冲突。一些研究显示没有作用，而另一些则显示能够延缓固体排空，特别是在男性中。在这些人体重大大减少后，这种现象没有改变。饮食混乱和厌食会同时延迟固体与液体的排空[33]。排便的自主性抑制也可减小胃排空速度[34]。最近 Milovic 与 Stein 对胃肠道疾病对制剂性能的影响进行了评论，读者们可以查阅这篇评论以获得更多的信息[35]。

痢疾与便秘与很多疾病相关，并且通常与药物的疗效相关。像胃-食道倒流，这些情况的原因是不同的，因此影响转运的作用也不同。例如，一群患便秘的患者，采用水溶性标记物的闪烁扫描法证实了标记物能快速扩散通过结肠，5/37 表现了正常的转运，26/37 显示出主要的拦截部位是横向的结肠和脾的弯曲部分，6/37 的拦截是在下降的正面 S 形的结肠处[36]。依赖于结肠细菌以释放活性部分的 Sulphasalazine 等前药，会受到痢疾的影响[37]。

有多种并发症的糖尿病等患者胃肠动力会发生不同变化。虽然食道转运延迟在临床上不会出现很大问题，但是却经常发生。然而，糖尿病患者的胃局部麻痹是一个难题。这些患者与没有糖尿病并发症的人相比，虽然全身转运没有差异，但餐后窦运动次数减少。研究表明，患者的胃清空异常、胆囊收缩减弱以及结肠转运时间延长，与心血管自主神经系统病变没有关系，与器官任何非正常自主活动、年龄或者糖尿病持续时间也没有关系[38]。

患有胆囊纤维化的患者需要补充胰酶以帮助消化食物。近年来的调查研究中，把肠衣酶丸用^{111}铟标记，把薄饼餐用^{99m}Tc-锡胶体标记，一起让患者服用，结果显示，药丸比食物先通过肠[39]。数据显示，酶转运失常是营养吸收障碍的原因，也是高剂量药物比食物先到达结肠，导致近结肠处变狭窄的原因。

健康人与患者体内的 pH

食物在胃中通过稀释、缓冲以及刺激胃酸分泌而影响胃中的 pH。在结肠处，pH 受食物中含有高比例的可发酵性的纤维结构物质的影响。进食的 1h 内，胃中分泌活动达到最大值，产生的胃液的体积可达食物的两倍。采用三电极 pH 计研究发现，食物对缓冲影响最大的时间发生在进食 30min 内，胃中 pH 的变化为 2～4.5[40]。甚至是服药用的一小口水也能使 pH 暂时升高，这是由于对剩余胃酸中和的影响。

食物内容也能影响胃的 pH。比如，纯粹的碳水化合物餐对胃酸分泌没有明显的影响[41]，而为了维持热量的高蛋白质餐，却可刺激胃酸分泌，这是蛋白质的消化产物：肽和氨基酸的作用，而非蛋白质本身所产生的作用。碳水化合物与蛋白质平衡的流体食物比混合型食物有更强的缓冲作用，但是流体食物排空后，pH 将迅速回落。一些研究人员已经发现，胃的基础 pH 高得惊人。在健康的受试者体内发现，在他们胃酸分泌严重减少的短暂期间可产生自发性的胃酸缺乏，也可能完全缺乏[42,43]。

小肠内 pH 的变化比胃或结肠的小，为 5.0～6.5，在此区间内升高缓慢。右侧结肠平均 pH 为 6.4，横段为 6.6，下降段为 7.0。饮食中含有的可发酵性的纤维食物，可使结肠的黏度和 pH 都下降[44]。日本近年的研究显示，患有克隆病的患者，无论是发病期还是好转期，结肠 pH 波动都很大，左右侧结肠 pH 比对照者的 pH 低很多[45]。

胃酸分泌的基本节律是晚上最多，早上最少。不同的人白天胃的 pH 有很大不同，部分原因是由于所吃食物的不同、胃酸分泌的生理反应不同以及正餐后引起的胃排空不同。然而，据发现，夜间胃酸分泌形式相类似，午夜至清晨间 pH 非常低[41]。晚饭吃得越晚，胃酸分泌达到峰值的时间越晚[46]。因此，根据抗胃酸药物夜间作用来确定晚餐的时间是很重要的。

pH 与性别

人胃酸分泌存在性别差异。健康女性分泌五肽促胃酸激素激发胃酸显著少于男性，24h 酸度中值为 485mmol/h，男性为 842mmol/h。在 365 个健康受试者中，男性平均基础 pH 为 2.16±0.09，女性为 2.79±0.18[47]。

pH 与年龄

曾有人假设胃酸分泌会随着年龄增加而减少。然而，近年来的研究却表明，一群平均年龄为 51 岁（44～71 岁）的健康受试者比平均年龄 33 岁（23～42 岁）的基础分泌能力高[48]。男性随着年龄增长胃酸分泌增多的现象比女性更明显，但是与身高、体重、体表面积、身体消瘦或者与感染幽门螺旋杆菌机会的增加没有关系。

对于儿童，胃肠道 pH 目前几乎还没有可以利用的数据。在 12 个年龄为 8～14 岁的健康受试者中，胃的平均 pH 为 1.5，十二指肠平均值为 6.4，但是 pH 在小肠逐渐升高，在末梢的回肠达到峰值 7.4[49]。当 pH 生物遥测胶囊进入盲肠后，pH 降低到 5.9，在直肠又上升到 6.5。遥测胶囊在胃中平均保留时间为 1.1h，小肠转运时间为7.5h，结肠转运时间为 17.2h。

结语

众多的生理因素和疾病状况可以改变胃肠道环境、影响药物通过胃肠道的转运时间和吸收时间。正确评价这些生理因素对于优化临床研究是很重要的。然而，高度的个体差异性仍将是临床试验设计中面临的主要挑战。

参 考 文 献

1. Hey, H.; Jorgensen, F.; Sorensen, K.; Hasselbalch, H.; Wamberg, T. Esophageal Transit of Six Commonly Used Tablets and Capsules. Br. Med. J. 1982, 285, 1717—1719.
2. Pemberton, J. Esophageal Obstruction and Ulceration Caused by Oral Potassium Therapy. Br. Heart J. 1970, 32, 267—268.
3. Eng, J.; Sabanathan, S. Drug-Induced Esophagitis. Am. J. Gastroenterol. 1991, 86, 1127—1133.
4. Smith, S. J.; Lee, A. J.; Maddix, D. S.; Chow, A. W. Pill-Induced Esophagitis Caused by Oral Rifampin. Ann. Pharmacother. 1999, 33 (1), 27—31.
5. Perkins, A. C.; Wilson, C. G.; Blackshaw, P. E.; Vincent, R. M.; Dansereau, R. J.; Juhlin, K. D.; Bekker, P. J.; Spiller, R. Impaired Esophageal Transit of Capsule Versus Tablet Formulation in the Elderly. Gut. 1994, 35, 1363—1367.
6. Perkins, A. C.; Wilson, C. G.; Frier, M.; Vincent, R. M.; Blackshaw, P. E.; Dansereau, R. J.; Juhlin, K. D.; Bekker, P. J.; Spiller, R. C. Esophageal Transit of Risedronate Cellulose-Coated Tablet and Gelatin Capsule Formulations. Int. J. Pharm. 1999, 186, 169—175.
7. O'Reilly, S.; Hardy, J. G.; Wilson, C. G. The Influence of Food on the Gastric Emptying of Multiparticulate Dosage Forms. Int. J. Pharm. 1987, 34, 213—216.
8. Ghoo, R. H.; Moore, J. G.; Greenberg, E.; Alazraki, N. P. Circadian Variation in Gastric Emptying of Meals in Humans. Gastroenterology 1987, 93, 515—518.
9. Brown, B. P.; Gross, J.; Schulzedelrieu, K.; Carmichael, D. C.; Barloon, T. J.; Abuyousef, M. M. Layering of Fat and Intermittent Cessation of Antral Contractions Delay Liquid Fat Emptying in the Human Stomach. Gastroenterology 1994, 106 (4 SS), A472.
10. Nakae, Y.; Onouchi, H.; Kagaya, M.; Kondo, T. Effects of Aging and Gastric Lipolysis on Gastric Emptying of Lipid in Liquid Meal. J. Gastroenterol. 1999, 34 (4), 445—449.
11. Edelbroek, M.; Horowitz, M.; Maddox, A.; Bellen, J. Gastric Emptying and Intragastric Distribution of Oil in the Presence of a Liquid or a Solid Meal. J. Nuc. Med. 1992, 33 (7), 1283—1290.
12. Renwick, A. G.; Ahsan, C. H.; Challenor, V. F.; Daniels, R.; Macklin, B. S.; Waller, D. G.; George, C. The Influence of Posture on the Pharmacokinetics of Orally Administered Nifedipine. Br. J. Clin. Pharmacol. 1992, 34 (4), 332—336.
13. Datz, F. L. Considerations for Accurately Measuring Gastric-Emptying. J. Nuc. Med. 1991, 32 (5), 881—884.
14. Hutson, W. R.; Roehrkasse, R. L.; Wald, A. Influence of Gender and Menopause on Gastric-Emptying and Motility. Gastroenterol. 1989, 96 (1), 11—17.
15. Magides, A. D.; Macfie, A. G.; Richmond, M. N.; Reilly, C. S. Gastric-Emptying in Pregnancy. Brit. J. Anaesth. 1990, 65 (4), 580P—581P.
16. Wald, A.; Van Thiel, D. H.; Hoechstetter, L.; Gavaler, J. S.; Egler, K. M.; Verm, R.; Scott, L.; Lester, R. Gastrointestinal Transit: The Effect of the Menstrual Cycle. Gastroenterol. 1980, 80, 1497—1500.
17. Miller, G.; Palmer, K. R.; Smith, B.; Ferrington, C.; Merrick, M. V. Smoking Delays Gastric Emptying of Solids. Gut 1989, 30 (1), 50—53.
18. Scott, A. M.; Kellow, J. E.; Eckersley, G. M.; Nolan, J. M.; Jones, M. P. Cigarette Smoking and Nicotine Delay Postprandial Mouth-Cecum Transit Time. Dig. Dis. Sci. 1992, 37, 1544—1547.
19. Scott, A. M.; Kellow, J. E.; Shuter, B.; Nolan, J. M.; Hoschl, R.; Jones, M. P. Effects of Cigarette Smoking on Solid and Liquid Intragastric Distribution and Gastric Emptying. Gastroenterol. 1993, 104, 410—416.
20. Pfeiffer, A.; Hogl, B.; Kaess, H. Effect of Ethanol and

Y

Commonly Ingested Alcoholic Beverages on Gastric Emptying and Gastrointestinal Transit. Clin. Investig. 1992, 70 (6), 487—491.

21. Wegener, M.; Schaffstein, J.; Dilger, U.; Coenen, C.; Wedmann, B.; Schmidt, G. Gastrointestinal Transit of Solid Liquid Meal in Chronic-Alcoholics. Dig. Dis. Sci. 1991, 36 (7), 917—923.
22. Johnson, R. D.; Horowitz, M.; Maddox, A. F.; Wishart, J. M.; Shearman, D. J. C. Cigarette Smoking and Rate of Gastric Emptying: Effect on Alcohol Absorption. Br. Med. J. 1991, 302 (67), 20—23.
23. Evans, A. M. Influence of Dietary Components on the Gastrointestinal Metabolism and Transport of Drugs. Ther. Drug Monitoring 2000, 22 (1), 131—136.
24. Koch, K. M.; Parr, A. F.; Tomlinson, J. J.; Sandefer, E. P.; Digenis, G. A.; Donn, K. H.; Powell, J. R. Effect of Sodium Acid Pyrophosphate on Ranitidine Bioavailability and Gastrointestinal Transit Time. Pharm. Res. 1993, 10 (7), 1027—1030.
25. Blair, E. H.; Wing, R. R.; Wald, A. Rapid Orocecal Transit in Chronically Active Persons with High Energy Intake. J. App. Physiol. 1991, 70 (4), 1550—1553.
26. Campbell, J. M.; Fahey, G. C. Psyllium and Methylcellulose Fermentation Properties in Relation to Insoluble and Soluble Fiber Standards. Nutr. Res. 1997, 17 (4), 619—629.
27. Cummings, J. H.; Branch, W.; Jenkins, D. J. A.; Southgate, D. A. T.; Houston, H.; James, W. P. T. Colonic Response to Dietary Fibre from Carrot, Cabbage, Apple, Bran and Guar Gum. Lancet 1978, 1, 5—9.
28. Barrow, L.; Spiller, R. C.; Wilson, C. G. Pathological Influences on Colonic Motility—Implications for Drug Delivery. Adv. Drug Delivery Rev. 1991, 7 (1), 201—218.
29. Hebden, J. M.; Gilchrist, P. J.; Perkins, A. C.; Wilson, C. G.; Spiller, R. C. Stool Water Content and Colonic Drug Absorption: Contrasting Effects of Lactulose and Codiene. Pharm. Res. 1999, 16 (8), 1254—1259.
30. Mearin, F.; Papo, M.; Malagelada, J. R. Impaired Gastric Relaxation in Patients With Achalasia. Gut 1995, 36 (3), 363—368.
31. Hep, A.; Vanaskova, E.; Tosnerova, V.; Prasek, J.; Vizda, J.; Dite, P.; Ondrousek, L.; Dolina, J. Radionuclide Esophageal Transit Scintigraphy—A Useful Method for Verification of Esophageal Dysmotility by Cervical Vertebropathy. Dis. Esophagus 1999, 12 (1), 47—50.
32. Holloway, R. H.; Tippett, M. D.; Horowitz, M.; Maddox, A. F.; Moten, J.; Russo, A. Relationship Between Esophageal Motility and Transit in Patients with Type I Diabetes Mellitus. Am. J. Gastroenterol. 1999, 94 (11), 3150—3157.
33. Hutson, W. R.; Wald, A. Gastric-Mmptying in Patients with Bulimia Nervosa and Anorexia-Nervosa. Am. J. Gastroenterol. 1990, 85 (1), 41—46.
34. Tjeerdsma, H. C.; Smout, A.; Akkermans, L. Voluntary Suppression of Defecation Delays Gastric-Emptying. Dig. Dis. Sci. 1993, 38 (5), 832—836.
35. Milovic, V.; Stein, J. Gastrointestinal Disease and Osage Form Performance. Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment; Dressman, J. B., Lennernas, H., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000; 17—30.
36. Roberts, J. P.; Newell, M. S.; Deeks, J. J.; Waldron, D. W.; Garvie, N. W.; Williams, N. S. Oral [in—111] Dtpa Scintigraphic Assessment of Colonic Transit in Constipated Subjects. Dig. Dis. Sci. 1993, 38 (6), 1032—1039.
37. Rijk, M. C. M.; Vanhogezand, R. A.; Vanschaik, A.; Vantongeren, J. H. M. Disposition of 5-Aminosalicylic Acid from 5-Aminosalicylic Acid-Delivering Drugs During Accelerated Intestinal Transit in Healthy Volunteers. Scand. J. Gastroenterol. 1989, 24 (10), 1179—1185.
38. Werth, B.; MeyerWyss, B.; Spinas, G. A.; Drewe, J.; Beglinger, C. Non-Invasive Assessment of Gastrointestinal Motility Disorders in Diabetic Patients with and without Cardiovascular Signs of Autonomic Neuropathy. Gut 1992, 33 (9), 1199—1203.
39. Hillel, P. G.; Tindale, W. B.; Taylor, C. J.; Frier, M.; Senior, S.; Ghosal, S. The Use of Dual-Isotope Imaging to Compare the Gastrointestinal Transit of Food and Pancreatic Enzyme Pellets in Cystic Fibrosis Patients. Nuc. Med. Communi. 1998, 19 (8), 761—769.
40. Washington, N.; Washington, C.; Wilson, C. G. Physiological Pharmaceutics; Rubenstein, M., Wilson, C. G., Eds.; Taylor Francis Series in Pharmaceutical Technology, Taylor & Francis: London, 2001.
41. Bumm, R.; Blum, A. L. Lessons from Prolonged Gastric pH Monitoring. Aliment. Pharmacol. Therap. 1987, 1, 518S—526S.
42. Desai, H. G.; Zaveri, M. P.; Anita, F. P. Spontaneous and Persisting Decrease in Maximal Acid Output. Br. Med. J. 1971, ii, 313—315.
43. Waterfall, W. E. Spontaneous Decrease in Gastric Secretory Response to Humoral Stimuli. Br. Med. J. 1969, 4, 459—461.
44. Tomlin, J.; Read, N. W. Comparison of the Effects on

Colonic Function Caused by Feeding Rice Bran and Wheat Bran. Eur. J. Clin. Nutr. 1988, 42 (10), 857—861.

45. Sasaki, Y.; Hada, R.; Nakajima, H.; Fukuda, S.; Munakata, A. Improved Localizing Method of Radiopill in Measurement of Entire Gastrointestinal pH Profiles: Colonic Luminal pH in Normal Subjects and Patients with Crohn's Disease. Am. J. Gastroenterol. 1997, 92 (1), 114—118.
46. Lanzon-Miller, S.; Pounder, R. E.; McIsaac, R. I.; Wood, J. R. Does the Timing of the Evening meal Affect the Pattern of 24 Hour Intragastric Acidity. Gut 1988, 29, A1472.
47. Feldman, M.; Barnett, C. Fasting Gastric pH and Its Relationship to True Hypochlorhydria in Humans. Dig. Dis. Sci. 1991, 36, 866—869.
48. Goldschmiedt, M.; Barnett, C. C.; Schwarz, B. E. Effect of Age on Gastric Acid Secretion and Serum Gastric Concentrations in Healthy Men and Women. Gastroenterology 1991, 101, 977—990.
49. Dantas, R. O.; Dodds, W. J. Measurement of Gastrointestinal pH and Regional Transit Times in Normal Children. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1990, 11 (2), 211—214.

（韩 雪 译）

Y

Y

硬胶囊

Brian E. Jones
Shionogi Qualicaps, Alcobendas, Spain

引言

硬胶囊或两部件胶囊于19世纪40年代起开始生产[1]，最初用于填充油，之后用于填充粉末或其他干燥物料。硬胶囊的第一个专利在法国公开，然而19世纪70年代在美国才第一次投入工业化生产。由于硬胶囊单元剂型易于生产，到20世纪初，美国制药业每年填充数百万硬胶囊。虽然硬胶囊的使用普及到了其他国家，但是它仍被视作美国专长，直到20世纪50年代硬胶囊的生产才普及到欧洲和世界上其他国家。由于这一时期抗生素和抗抑郁药等的广泛应用，硬胶囊的生产量激增，同时促使全自动胶囊填充机和自锁胶囊的生产，以适应高速工业化生产的需要。硬胶囊外形美观，易于吞咽，深受广大消费者的欢迎。硬胶囊内容物多是典型的、简单混合的干粉末。材料的处理和填充只需要最小的压力，这是产品采用这种剂型的原因。硬胶囊生产受到的影响因素有限，因此药剂师能够根据需要制备快速释放、控制释放或修饰释放的产品。硬胶囊可以填充物理性质变化范围很大的处方，从干固体到非水溶剂都可作为填充物，从而药剂师就能使用不同类型辅料以达到预期效果。胶囊产品可设计成在胃肠道不同部位释放其活性成分，或将活性成分输送到肺部。

原材料

明胶和替代材料

明胶来源于胶原质，是一种天然蛋白。胶原质是一种纤维性材料，存在于动物皮肤、骨骼和结缔组织中[2]。它不溶于水，但水解产物可溶。生产明胶的原料主要是牛骨和猪皮，酸性环境中水解可得到A型明胶-猪皮的提取物；碱性环境水解可产生B型明胶-牛骨提取物。明胶作为一种非均质产品，是三种分子α-、β-、γ-多肽的混合物。各部分的比例和相对分子质量取决于化学过程。明胶为生产胶囊的首选理想材料，是因为它具有一系列独特的性质：可食用、体温下可溶、可形成硬质薄膜、在略高于室温下可发生胶凝过程[1]。明胶也有一些技术上的缺点，由于它来源于动物，在其使用过程中就存在一定宗教或饮食上的限制。20世纪90年代，起源于英国的疯牛病，引发了人们对牛原材料的广泛关注。欧洲的使用情况受欧盟委员会控制，欧盟委员会制定有效法规使风险最小化[3]。理论上传染性最强的动物组织，如脑组织，在屠宰时就被除去，从而在进一步的加工处理过程中被排除在外。在欧洲只有动物的骨头被用于生产明胶，兽医就会对这些动物进行活体和尸体检查。由于碱水解过程所需要的pH和温度条件，欧盟委员会采用碱水解过程为骨头的首选方法。世界上药用明胶的生产厂家数量有限，因而问题可以有效解决。

由明胶制备硬胶囊的传统方法是浸渍法。明胶很适合采用这种方法，因为它是一种极好的成膜体，只需在略高于室温，它就能从液态转化为固态[2]。生产出的膜是均匀的，且十分结实，所以明胶胶囊能耐受填充和包装的机械应力。明胶使用中最大的缺点是明胶含有作为膜增塑剂的水，所以如果明胶胶囊储存不当，其性状就会发生变化。当囊壳失水时，就会变脆，所以它不适合填充吸湿的材料。潮湿环境下易变的物质不能作为胶囊的内容物。在某些市场上，素食消费者需要来源于蔬菜的胶囊。从20世纪起，人们开始寻找明胶替代品。要克服的首要问题就是获得一种与明胶相似的凝胶化过程的材料，这样相同的制备工艺和设备就可以继续使用。20世纪50年代，甲基纤维素胶囊问世了。然而由于其体内溶解性差，未能继续使用[1]。最近，开始采用羟丙甲纤维素（HPMC）制造硬胶囊，通过使用热模针改良生产过程[4a~c]或采用添加剂来形成真正凝胶化系统[5a~d]。由HPMC制备的硬胶囊与由明胶胶囊相比具有相似而不同的性质。HPMC胶囊主要优点是含水量低，即使除去水，胶囊仍然保持其机械强度[6]。

胶囊生产

明胶胶囊采用浸渍工艺生产。此法于1846年由M. Lehuby首次提出[1]。至今仍采用相同的工艺，但已经进行了改进并且实现了自动化。该工艺需要厂房和设备的大量投资，要求连续生产，使工艺更经济。这个原因导致世界范围内只有有限数量的公司可以生产胶囊。

胶囊生产的工艺：首先是将用热去离子水制备明胶浓溶液，将此溶液置于低压条件下以除去气泡。取溶液的一小部分(20～30L)，加入可溶性色素的溶液或色素的混悬液，十二烷基硫酸钠等工艺辅料，并加入水以调节黏度。最终溶液的浓度为25%～30%的明胶。将该溶液输入胶囊生产机器。

胶囊生产机器置于空气过滤的房间内，相对湿度40%～45%RH，温度22～25℃。最常用的机器约12m长，3m高，在中间分为镜相对称的两部分（图1）。机器在长轴方向分为两层，顶层和底层。囊帽在左侧制造，囊体在机器右侧制造。将明胶溶液置于控温的夹套加料斗中（图1A部分），从料斗送入制胶囊容器中，或称为浸渍盘或浸渍壶（图1B部分）。这是不锈钢的椭圆形夹套容器，中心有一个盒子。将明胶溶液泵入盒子中，在边缘溢出，以维持恒定

的高度。不锈钢模具栓 30 个一排安装于钢条上。成套钢条置于凸轮操控的装置中，上下运动。模具栓保持于 22℃，降低浸入 50～55℃的明胶溶液中，明胶立即在模具上胶凝。模具慢慢升高，同时多余的明胶流出（图 2）。模具带起的明胶量与其黏度成正比。明胶溶液的黏度越高，带起的明胶越多。因此，用溶液的黏度控制明胶膜的厚度。当模具打破表面时在模具末端形成一团。成套钢条从底部传送到机器的顶部，同时旋转将膜均匀地涂布于模具盘的末端。明胶膜完全通过钢条到达机器顶部的时间确定。成套钢条组合在一起，机械转运通过一系列的干燥炉（图 1C 部分），用控制温度和湿度的空气吹。当成套钢条到达机械末端时，传送到底层，并返回到机器的前部。当钢条出干燥炉时，明胶膜的湿气含量从浸渍时的 70%降到 16%，同时模具在干燥过程中加热变温，也回到机器的室温。



图 1　胶囊生产机器。A. 明胶溶液储存灌；B. 浸渍栓；C. 干燥炉；D. 自动模块[5a～d]

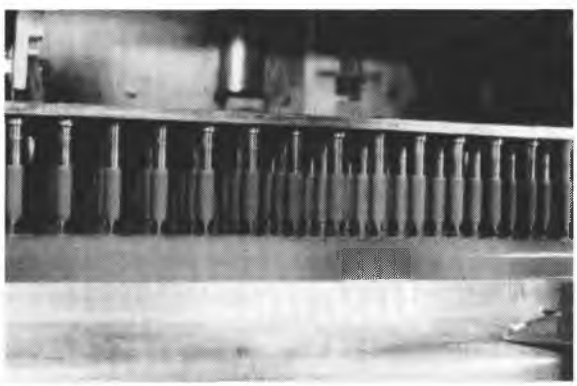


图 2　浸渍栓、胶囊壳的形成[5a～d]

干燥后的明胶膜从模具栓中取下，切成合适的长度，并将囊帽和囊身拼接。这一步通过机器的自动模块完成（图 1D 部分）。成对的钢条，一条带囊帽，一条带囊身，通过中心工位，金属爪将膜从模具栓上拉下送入夹头中将其夹住，夹头围绕刀片旋转，切割明胶膜。多余的被吸走并加以回收。两部分传送到中心拼合区，拼成固定长度，称为开放拼合长度。胶囊并没有完全锁上，否则填充机将难以将其分开。两部分拼合时至囊帽的锁前压痕将囊身固定，有足够的力确保在后续工艺中不分开。

HPMC 胶囊的生产采用类似的生产工艺，有两种不同的方式。HPMC 溶液的黏度随温度的升高而增加，因此当温度高于 60℃热模栓浸入 20～25℃的 HPMC 溶液中时，会在模具上胶凝。必须对生产机器进行调整以进行该过程[4a～c]。在模具浸渍后还要加热以确保在干燥前附着材料。用该法生产的胶囊的胶壁是标准明胶胶囊的 2 倍，有着足够的机械强度进行后续工艺。在采用其他胶凝体系的工艺中，在 HPMC 溶液中加入符合 USP 的角叉菜胶，作为胶凝辅助剂，并加入 KCl 作为胶凝促进剂[5a～d]。胶囊的生产采用同样的方式，大小也与明胶胶囊一致。工艺上唯一的差别是由于胶凝速率比明胶慢，输出速率较慢。

空胶囊的标准

空胶囊有 2 套标准，分析标准和功能标准[6]。像其他药物制剂一样，胶囊必须符合药品生产管理规范（GMP），其制造材料必须符合药典规定的化学标准和微生物标准。然而这些试验并不能说明胶囊能否在胶囊机填充机上运行良好。生产商对胶囊进行了一系列功能性检查。检查内容之一是关键尺寸——囊帽和囊身的长度和直径。这是个连续生产工艺，而且只有极少数产品目检不合格。采用标准统计学取样方法检测样品质量。厂家和用户签署可接受质量水平协议（AQL）。按照对胶囊性能的影响或对填充工艺的影响将产品出现的质量问题分为不同种类。每种质量问题采用不同的 AQL。

空胶囊的储存

空明胶胶囊的含水量为 13%～16%，其中的水作为增塑剂，对保持胶囊的柔软性和膜强度有重要作用。如果含水量低于下限，胶囊会变脆；如果含水量高于上限，胶囊会变软。空 HPMC 胶囊的含水量为 3%～7%，这种胶囊的含水量可低于 1%，而不会影响其机械强度和变脆[7]。硬胶囊中的水与聚合物结构紧密结合，不足以提供活菌生长的环境[2]。

含水量也会影响胶囊的尺寸，吸水或失水时尺寸都会有细微的变化，通常含水量在 13%～16%时，每变化 1%时，胶囊尺寸就会变化 0.5%[1]。HPMC 胶囊的含水量低于明胶胶囊，尺寸随含水量的变化程度较小，所以高速填充机应该在空调区操作以达最佳效果。胶囊含水量取决于胶囊所处的环境[8,9]。随水分流失或吸收，吸湿/失水等温线有明显的滞后。在实际操作中，这意味着如果胶囊大量失水，当再次放置在标准环境（RH＝35%～50%）中时，它们就无法再次水化。

胶囊填充

硬的两部件胶囊可以填充物理性质差异很大的材料。可以填入硬胶囊的处方种类见表 1。胶囊填充机处理空胶囊

Y

的方式使其成为可能。首先，将胶囊排列一致的方向，囊身向下。再将它们传送至成对的刷状物，顶刷基部的开口只能通过囊身，因而将囊帽留住，然后用真空将囊帽和囊身分离。开口的囊身传送到加料器，将药物填充入囊身，然后将囊帽扣在囊身上，并扣紧至锁口长度，这一尺寸相当重要，因为只有当囊身与囊帽上的缺口相互吻合并锁紧时，才能达到这一长度，就能保证填充好的胶囊在自动生产线上传输和包装时不会分开。

表 1 能填充入胶囊的处方种类

干固体	半固体	液体
粉末	触变混合物	油性液体
颗粒	热塑性混合物	非水溶液和混悬液
小丸	糊剂	
小片		
胶囊		

胶囊填充机间的区别在于其确定填充物的剂量的方式不同，从桌上型规模到工业大规模，从手工到全自动，都有相应的可适用的胶囊填充机。

1. 粉末填充

胶囊剂的处方多数是干粉末，确定填充剂量的方法可分为，依赖型的和非依赖型的两种方法。依赖型机器直接利用囊体来确定粉末剂量，而非依赖型机器则采用独立的装置。比起有关压片机的文献，胶囊填充机械的文献有限。部分原因是与胶囊相比，由于片剂在卫生保健以外的行业都有广泛的应用，因而这一领域有更多的工作者。

第一台工业胶囊填充机是依赖型的，粉末经料斗直接填充入囊体，粉末借助转动螺杆或振动板流动。这样填入的粉末呈疏松状，因为囊体填入过量，囊壳的所有内部空间都被填满，这种机器填充胶囊中的填充物的质量往往高于全自动非依赖型填充机填充的胶囊[10]。第一种成功的工业胶囊填充机是由制药工程老前辈 Arthur Colton 研制的，并得到广泛应用。其中最著名的是 No. 8 型，它是一种半自动螺杆填充机（图 3）。将空胶囊通过吸力作用置于圆环形的板上，并将囊帽和囊身分开。将囊身所在的板手动转移到转台上，料斗置于板上方，随着板在料斗下方的旋转，粉末由螺杆送入囊体。转台的转速和螺杆的速度控制填充量的多少。使装量均一的唯一方法是完全填充囊体而非部分填充。最近，研究人员对设计做了部分修改使其符合 GMP 的要求。第一台产品是由 Eli Lilly 于 20 世纪 80 年代研制的 Quali-fill 8S 形，此后又有了改进品种：Schaefer 技术公司研制的 Quali-fill 10 型和 Capsugel 研制的 Ultra8II®。Shionogi Qualicaps 研制了全自动旋转螺杆填充机 LIQFIL-superJCF40/80™，这种机器具有三滚轮系统用于胶囊定位，并将胶囊连续传送至用于分离、填充、组装胶囊的转盘。其他自动型依赖型填充机采用振动法将粉末装入囊体。第一台这样的填充机 Osaka OCF120 在料斗内装有振动板，囊身装在转盘孔洞中，被转盘传送通过料斗，从而将囊身装满直至溢出，随后升起，用金属板刮去多余的粉末。这一系统适用于稠密且流动性好的物料。Shionogi Qualicaps 对这一方法做了改进，生产了 LIQFILsuper40 和 80™，其工艺是用振动板填充囊体，然后用弹簧条将粉末压实。

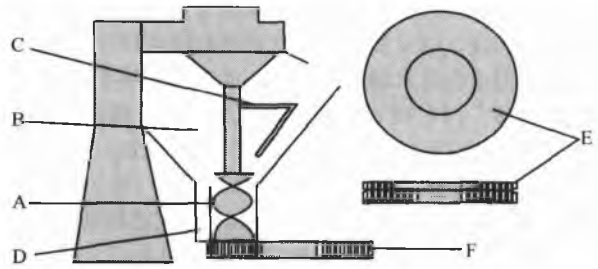


图 3 螺杆填充系统的结构示意图（No. 8 型）。
A. 螺杆；B. 粉末料斗；C. 搅拌臂；D. 释压孔；E. 胶囊环；F. 胶囊环固定装置

工业上适用的多数填充机都是非依赖型的，它将准确计量的粉末压制成塞状，工作原理有两种：计量管、计量盘和夯实棒。

起源于意大利的计量管最常用，目前的产品有 IMA North America 公司的 IMA（Zanazi & Famatic）、MG America公司的 MG2、Romaco，Inc 的 Macophar 和Bonopace。粉末在计量管中形成塞状，计量管内有可移动的活塞，可控制粉末体积并提供压力形成塞状（图 4）。产量低的机器为间歇式，产量高的机器为旋转式。间歇式机器比旋转式机器提供的成塞压力大，因为间歇式成塞时间短，这就要求处方的流动性好。这类机器功能较多，因为稍加调整活塞的位置，就能使填充量在很宽的范围变动。旋转式机器可与称量装置联用，并装有自动控重调节器，可使它们运行时无需人参与。

计量盘和夯实棒型机器形成粉末塞的方式与计量管式相似但不同。有多家厂商生产：T. L. System Corp 的 Bosch 和 A. W. Bohanan Co.、Index Manufacturing Co. 等。计量盘形成料斗的底部，有多达六套的机械孔（图 5）。在料斗上方的固定装置上安装了与盘上孔洞相对应的夯实棒，这类机器为间歇型运行。机器压模（Indexed）后转动架是静止的，夯实棒降入粉末床，夯实棒设定成不同高度水平，穿入计量盘将孔中的粉末压制成塞。这样夯实棒形通过一系列的夯实形成塞，而不像计量管中用一次动作压制成塞。计量盘厚度不同以适应不同型号的胶囊。所以选择合适厚度的饲料盘十分重要，因为如果达不到所需的填充量，必须将机器拆开进行更换。为一个处方选择合适的计量盘可采用简单的套具进行试验[11]或系统的用 Instron 测试仪测量粉末塞密度和已知压力下的处方强度[12]。

1.1 桌上型胶囊填充机

用于少量制备胶囊的手工填充装置有许多种。典型的手工填充装置由钻有小孔的塑料板制成，孔的大小与要填充的胶囊型号相对应。胶囊置于板上，手工依次填装或采用机械设备填装。囊身被夹在底板上，将顶板移走，就可将

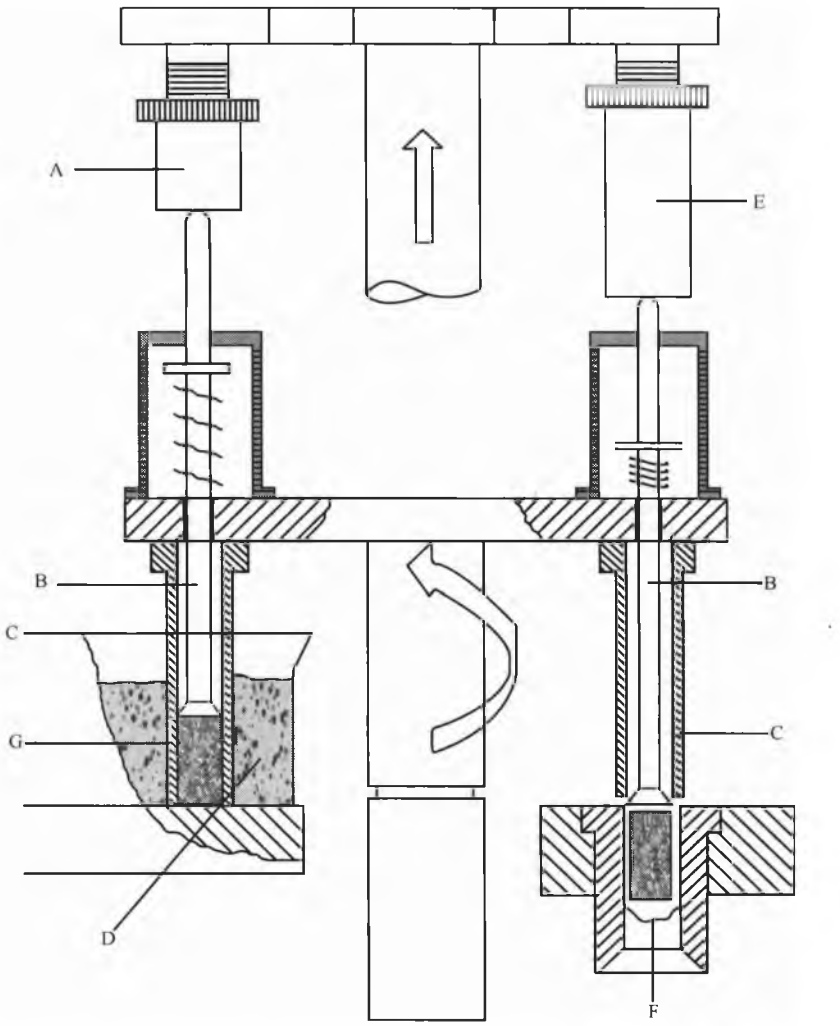


图 4 计量管系统的结构示意图（Zanasi RM63）。A. 施力平台；B. 活塞；C. 计量管；D. 粉末漏斗；E. 塞推出平台；F. 刷中的囊身；G. 粉末塞

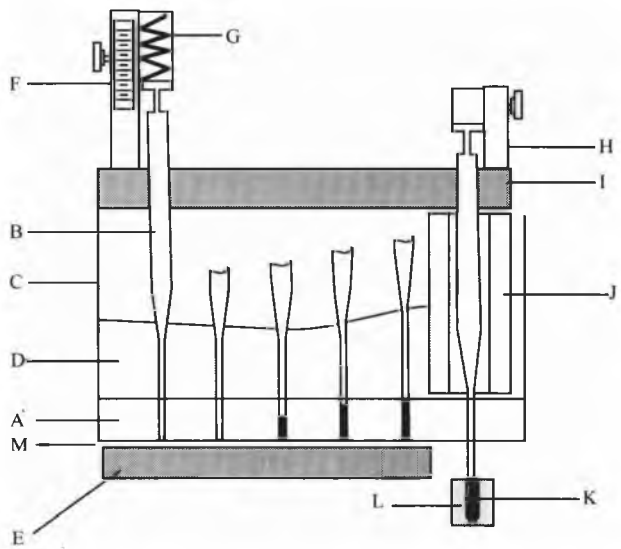


图 5 计量盘和夯实棒的示意图（Bosch GKF 机器）。A. 计量盘；B. 夯实棒；C. 粉末漏斗；D. 粉末床；E. 支持板；F. 夯实深度调节器；G. 过载释放弹簧；H. 推出调节器；I. 导轨；J. 传送模块；K. 粉末塞；L. 刷中囊身；M. 吸气

囊身与囊帽分开。松开囊身，使其低于底板顶部，将粉末或小丸铺在板上，物料便填入囊身中，通常用一个抹刀刮板帮助粉末流动。由化工与制药工业公司生产的 301 大型不锈钢机器也投入应用。该机器有一个夯实装置，可以填充较多的物料。

Schaefer Technologies 公司生产了小型自动机器Incap. dott. bonopace，这类机器采用计量盘和夯实棒来确定填充量，产量可达到 3000 粒/h。

1.2 仪器式填充机

不同于压片机，仪器式胶囊填充机并未广泛使用[13]，部分原因是因为基础研究做得不够，如测量形成粉末塞并将其推出的低压力（1～100N）存在固有问题，粉末床比压片机的更难以控制[10]。大多数已出版的研究文献都是针对间歇计量管机器。给活塞加上张力计，给系统的运动部分加上 LVDTs，以测定粉末塞形成中做功[13]。只有一组研究人员报道了有关仪器化计量盘和夯实棒机械的研究[14]。这些机器的问题在于粉末塞在 5 个不同的位置形成，全部装配仪器可能比较困难。现已建立了胶囊填充模拟机，克服了一些固有问题，这些问题阻碍了实际机器的仪器化。因为计量部件一直在运动，旋转式机器的问题最大。一种新式的解决方法是采用带有单一静止的计量管的六角转台，再制造一种装置带动粉末料斗围绕六角转台转动，模拟机器运行[15]。已经制造了间歇运动式计量管的常规模拟设备，这种设备可以测量轴向压力和推出力，还可测量径向压力[16]。该设备还可用于研究辅料的固结性和塑性。采用压片模拟设备研究低压力下的粉末塞成型工艺，并采用标准压片物理对结果进行分析[17]。

2. 干固体填充

颗粒、小丸和片剂可通过自动填充机填入胶囊。将药物制成这些剂型可改善药物的释放速率，还可将不相容的组分分隔开或在指定型号的胶囊中增加填充的密度。

填充这些产品的机器可分为直接和间接两类。直接型机器将物料填入囊体直到填满，如 Schaefer technologies 公司的 Quali-fill Pellet filler，或任何除去螺杆的螺杆填充机。后者由可变体积的隔室来确定填充量，可调节其体积来控制填充质量。机器改进了计量管，该装置或凭借吸力使物料在传输过程中保留在管中，或在向前经过物料床时被填满。其他类型的隔室带油滑动板以测量和释放药物，如 BoschGKF 机器。计量后的物料凭借重力或空气压力装入囊体，如 IMA Farmatic 2090 和 MG2G60。

这些制剂的物理性质相似，每种类型都应当不易碎。片剂通常需要薄膜包衣。两种类型的片剂可填入胶囊，通常片剂呈凸状，其直径合适便于装入囊体，且有足够的空隙不至于侧倾[18]。在美国，20 世纪 80 年代 Tynenol® 事件之后，有需要将较大的单个片剂填入胶囊中，以使囊壳中没有空间可使物料自由移动。胶囊壳粘连或收缩在片剂上阻止其移动。颗粒和小丸形状要一致，以得到良好的流动性和填充性，颗粒和小丸的粒径要和胶囊的型号相一致，小粒径的小丸应填充于小胶囊中，否则，由于“壁效应”将使填充质量低于预期填充质量[19]。

3. 液体填充

所有主要的机器生产商都制造可填充液体的机器。液体填充有两种类型：一种是非水溶液或混悬剂的处方；另一种是只是为了填充在加热或剪切后液化的非水溶液或混悬剂的处方[20]。如果处方在常温下有流动性，那么胶囊在填充后就需要封口。

药物的填充量用容量泵计量，因此在多数情况下，装量的均匀性要比粉末填充机好。通常填充的变异系数小于 1.0%，该值取决于液体的物理性质，尤其是黏度[22]。已制造的填充机可以处理黏度 100～200cP 的物料。液体填充机的运行速率要比相应的粉末填充机要慢。这是因为液体要通过比粉末更小的孔，所以时间较长，其填充速率是相应的小型粉末填充机的 50%～60%。

胶囊的填充容量

硬胶囊的填充容量取决于胶囊型号、处方类型和填充装置的填料机制（表 2）[10]。传统方法计算粉末填充物的质量是将粉末密度值与胶囊生产厂家提供的胶囊容积相乘而得，这里的胶囊容积实际上仅是囊身容积，因为这一值是 20 世纪初手工在药房填充胶囊时测得的。将这一体积值乘以粉末压实的堆密度（TBD）就能为机械填充提供相当准确的预测。可以这样预测的理由是填充机的计量机制。依赖型的机器可以填满胶囊空腔内的总体积，但只能达到小于 TBD 的密度。非依赖型的机器可提供更高的压力，使粉末形成直径和长度都小于囊壳的塞状物（表 2）。因此，尽管塞状物的可能比 TBD 高，机械也不能填满所有的胶囊内部空间。

表 2 胶囊填充体积数据[10]

胶囊型号	囊身容积[1]/mL	内部容积[2]/mL	塞状物最大长度[3]/mm	塞状物最大体积[4]/mL
0E	0.78	0.87	21.9	0.68
0	0.68	0.78	19.7	0.61
1	0.50	0.56	17.7	0.44
2	0.37	0.44	16.1	0.34
3	0.30	0.32	14.3	0.26
4	0.21	0.25	13.2	0.19

1）来源于 Capsugel Multistate File 和 Shionogi Qualicaps Capsules 技术资料手册。

2）从最理想的胶囊形状计算而得，每部分为一圆柱体和一半球体。

3）从非变形塞状物计算而得，它的形状与胶囊内腔一致，长度与 Shionogi Qualicaps Capsules 公司的标准接近。

4）基于 Bosch（H&K）机器计量盘的孔尺寸。

小丸和颗粒的填充遵循相同的规律。颗粒的粒径是关键，因为小直径管中的大颗粒可使空隙率增加。胶囊越小，相应填充颗粒的直径越小，这样才能使填充均匀。

胶囊中液体的填充容量有限制，为防止药品溢出，最大填充体积不能超过囊体体积的80%。

4. 胶囊封口

为防止液体从囊口溢出，人们提供了很多胶囊封口的方法，最成功的是明胶带法[20]。在已填充好的胶囊中央绕两条明胶溶液带，如 Hicapseal™ 40/100（Schaefer Technologies 公司）。这一明胶带使用室温空气干燥，以防止水分从囊壳流失，从而避免囊壳变脆。可以将明胶带着色，使产品具有多重色彩，所采用的明胶带符合 FDA 的《OTC 药品 Tamper-Evident 包装要求》[21]对 Tamper-Evident 封口胶囊的要求。

5. 多组分

全自动胶囊填充机可以有一个以上的产品计量装置，因此不同的物料可以混合填入一个胶囊，如粉末和半固体的混合物、粉末和片剂的混合物，同样的处方规律适合单一剂型。不同物料的混合填充使制剂人员能按照产品的稳定性和释药类型来达到特定的给药目的。

处方

1. 粉末性质

用于胶囊填充的粉末处方必须有良好的流动性，不黏附，有足够的内聚性，在较低的压力下形成塞状物。此外，粉末必须稳定，并以所需的方式释放药物。可以用各种从简单到复杂的小型测试方法评估粉末的填充性质[11]。有数篇研究报告通过堆实密度计算粉末的各种性质常数，发现扫粉末和填充性能之间有良好的相关性[23~25]。对于各种微晶纤维素，Lüdde-Kawakita 常数 a 和 Hausner 比能很好地表示其机器填充性能，特别是在判断不同来源的物料的互换性时[23]。对于不同形状颗粒的两组分混合物的研究表明，Lüdde-Kawakita 常数 a 可以用于表示最大体积减小程度[24]。对于微晶纤维素，一种有角的颗粒，乳糖一水合物能改善其堆性质，而球形或针状的颗粒则会降低其堆性能。同样的方法用于研究制粒后或施加低压后粉末的堆体积改变[25]。结果表明高剪切制粒或使用机器压制能增加胶囊装样量，且结果直接与初始的粉末性质相关。植物粉末的胶囊填充更是一个挑战，因为所用的植物组织范围很广。这些物料的流动性很差，要测定多种粉末性质常数，试图找到与填充机性能相关的参数[26]。发现夯实填充机器比计量管机器能应付更多种的植物。粉末在活动状态的流动性可以用特定的流变计测定，这些数据能与其他的粉末性质相关[27]。

粉末在填充机上的流动性可能通过机器的设计加以改善，大部分机器均有移动的部件、振动或抽吸垫以辅助粉末的流动。另一个影响装量均匀度的因素是物料吸附于移动的部件，特别是计量装置。已经证明计量管的表面纹理性质是一个重要的因素[28]。计量部件的表面可能会涂布不同的金属涂层，与压片的冲头和模圈类似，以减少吸附[29]。涂层的类型与粉末处方的物理性质有关。

2. 体外试验

药典要求硬胶囊采用与片剂相同的仪器测试，尽管其物理性质差异很大。填充好的胶囊含有气泡，大部分制剂漂在水面。需采用装置确保其下沉，这些装置可能会影响试验结果[30]。明胶和 HPMC 为黏附性材料，易堵住仪器的标准部件如转篮的金属网眼。胶囊的崩解和溶出方式取决于多种因素，如温度和测试介质的性质[31]。文献参考了硬胶囊的作用，然而发现限速步骤为内容物的性质而不是胶壳[32]。

当胶囊置于温度为37℃的水性溶液中，囊壁吸收水分而膨胀[31]。水分渗透速度与壁厚成反比。对于明胶胶囊，30～40s后可以在胶囊内壁观察到水滴。囊壁首先在囊帽或囊身的肩部破裂，该处为胶囊最薄的部位。明胶的溶解度取决于溶液的温度[33]，当温度低于35℃时溶解度显著下降，当温度低于30℃时，完全不溶，仅仅膨胀和变形。HPMC 胶囊在10～55℃之间有着缓慢但一致的溶解度[34]。两种胶囊的溶解均受试验介质的影响，如离子强度和 pH 水平[6,31]。

桨法为测试硬胶囊产品溶出速率的最常用的方法，该测试用于生产质控和评价产品的稳定性。当明胶胶囊储存于高温和高湿（45℃，75%RH），其在水中的溶解度随时间而下降。这是因为形成了表膜，减慢了释放[35]。该效应称为交链，可通过明胶和含有活性基团如醛基的化合物相互作用引起，也可通过明胶分子的重新排列成更似胶原的结构造成[2]。在20世纪90年代早期，FDA 对此加以关注，并启动了一个测试项目来明确该效应对产品药效有无影响[37]。他们将对乙酰氨基酚装入胶囊，该胶囊预先用两种浓度的甲醛处理，另一组不用甲醛处理，测定其在水中和人工胃液中的溶出，人工胃液加或不加胃蛋白酶。得到了三组结果，即在所有介质中均合格、在水中不合格但在人工胃液中合格（低浓度甲醛处理）、在所有介质中均不合格（高浓度甲醛处理）。这些胶囊在人志愿者身上进行了试验。药动学参数 c_{max}、t_{max} 和时滞可按大小排列，但 AUC 相同。但是这些产品不能认为是生物等效的，因为在所有介质中均不合格的胶囊与未处理的胶囊相比，在80%～125%的限度以外。基于该项研究，USP 引入了硬胶囊的双等级（two-tier）测试[36]。如果胶囊水中不合格，可用 pH 1.2 含有胃蛋白酶的溶液，或 pH 7.2 含有胰酶的溶液重复进行。另一项研究采用 γ 闪烁法进行，发现未处理或中等程度处理的胶囊体内崩解无差异[38]。

HPMC 不与醛或其他引起明胶交链的化合物反应[6]，HPMC 胶囊开始释药比明胶胶囊稍慢，因为水扩散进入其

囊壁较慢。可是一旦溶出开始后，速率相似，结果相当。在加速环境下储存后溶出只有少许改变[6]。

3. 体内表现

胶囊产品可以设计成将活性成分在胃肠道的不同部位释放药物或将药物输送到呼吸道[39]。可以将半固体骨架处方填入普通胶囊制成口腔制剂，使产品有良好的口感，经咀嚼或吮吸后内容物留在口腔供吸收或起效[40]。胶囊的形状易于吞服，因为一条轴比另一条轴长。这使得舌头将其像鱼雷一样排列进入喉咙。很多大的片剂为胶囊形状的，所谓胶囊片（caplet）就是利用了这一点。文献表明，假如患者直立状态下用水服用胶囊，黏附于喉咙不会比其他固体剂型更多，实际上是更少[41,42]。胶囊在患者体内可以用不透射线的标记、X射线或放射性同位素如锝-99和γ闪烁法观察。在胃部，胶囊崩解、内容物的扩散取决于患者的进食状态：进食或禁食[43]。可以用漂浮技术将胶囊滞留于胃部，这是由于采用了亲水胶体，与水接触后膨胀，形成凝胶，通过扩散释放药物[44]。肠溶产品可以采用将囊壳包裹聚合物的方式，也可以填充包衣颗粒[39]。制剂人员面临的挑战是将多肽和蛋白质输送至结肠。可以将胶囊包裹只在结肠破裂的聚合物，如偶氮聚合物和甲基丙烯酸的混合物[45]。还可以综合使用有机酸和pH敏感包衣材料，将药物输送至结肠近端[46]。胶囊还可以直肠给药，可以制成速释或缓释制剂[47]。给药技术与其他的固体直肠剂型不同，必须采用润滑剂如液状石蜡涂布。

供吸入的粉末填入胶囊，而胶囊作为可生物降解的包材。活性成分为微粉化状态，或直接填入胶囊，或更常见的吸附于载体颗粒乳糖[48]。采用自动化机器填充，因为装量很小，如小于40mg，采用微型计量盘。采用特别的吸入装置给药，药粉要么通过小孔释放，该小孔由给药装置刺破，要么通过在装置内分离的胶囊释放。吸入剂是吸气启动的，当患者吸气时，有一股气流经过装置，将药物颗粒带到肺部[49]。

4. 释药处方

多数产品都是胃部释药，释药的限速步骤是胶囊内容物的性质[32]。在处方设计中，制剂人员要考虑活性成分的理化性质，所需辅料的性质和类型及填充工艺[10]。

活性成分最显著的性质是水溶性和粒径。粒径需要仔细筛选，小粒径颗粒由于有较大表面积而溶解快，但装入胶囊则会聚结，所以溶液无法浸润每个颗粒（图6）[50]。活性成分的可获得表面积比实际表面积更重要。通常，处方中单一用量最大的是填充剂（稀释剂），其作用是对于强效成分增加填充量，并辅助形成粉末塞。填充剂对活性药物的释放也有重要作用。20世纪60年代末澳大利亚的苯妥英事件使人们第一次警觉到这个问题。这一事件表明所选填充剂的溶解性应与活性成分互补[51]。难溶药与易溶辅料配伍。总体目标是使粉体尽可能具有亲水性。对强效活性成分来说，这一目标很容易达到，因为胶囊中有足够的空间可以填入所需性质的辅料，如流动性和溶解性。对于剂量大的药物，必须选择低浓度下就有作用的辅料，这样就需要添加崩解剂和润湿剂。淀粉作为片剂的崩解剂在胶囊中不能起到同样的效果，因为粉末填充的孔隙更多。胶囊填充常采用被称为超级崩解剂的羧甲基淀粉钠和交联羧甲基纤维素，两者具有快速溶胀和“灯芯”效应强的特点[52]。

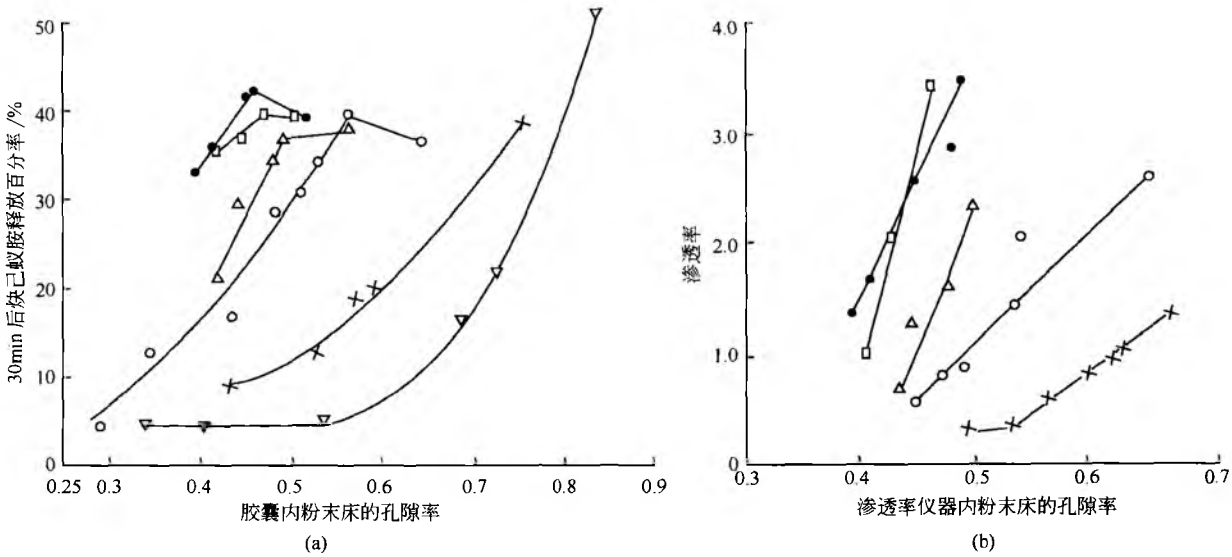


图6 炔己蚁胺从填入不同粒径颗粒引起不同孔隙率的胶囊中的释放。(a) 药物30min的释放百分率；(b) 在已知孔隙率下相应的粒径分数的液体渗透率（$m^2 \times 10^{11}$）。●—●=251～420μm；□-□=177～251μm；○-○=152～177μm；×-×=66～76μm；△-△=8.3μm[50]

处方中某些为改善填充效果而加入的辅料往往因为其疏水性而对药物的释放产生不良的影响，为防止黏着改善流动性而加入的润滑剂就会产生这种不良影响。美国和欧洲胶囊处方中最常用的辅料是硬脂酸镁[51,53]，它有疏水性，许多文献都报道了它对溶出速率的不良影响。然而，胶囊中硬脂酸镁的浓度与释药速度间的关系并不像片剂中的那样简单。片剂中，随硬脂酸镁浓度的增加，释药速度成比例的下降。造成这一现象的原因是片剂与胶囊的性质的显著不同。采用高压力将片剂压成具有相对低孔隙率的固体，而且只有这样片剂才能在后续工艺中不损坏，而硬胶囊产品包含高孔隙的粉末块，将压成塞状或未压成塞状的粉末块填装在胶囊壁壳内，使其在后续处理中不损坏。当硬脂酸镁分散在其他颗粒表面时，它起到润滑剂的作用，同时降低了颗粒的黏附性，所以当它浓度增加时，粉末块会易于开裂。一些研究者已经证明，硬脂酸镁浓度的增加会增加溶解速率：小颗粒药物黏附性变差（图 7）[54]，粉末易于破裂，所以当囊壳溶蚀后，药物塞更易崩解开（图 8）[55]。如果处方中硬脂酸镁的用量未进行优化，填充工艺中就存在可能出现这种可能：硬脂酸镁将逐渐分散到更高程度，会引起溶解性和装量均匀性的差异[10,56]。

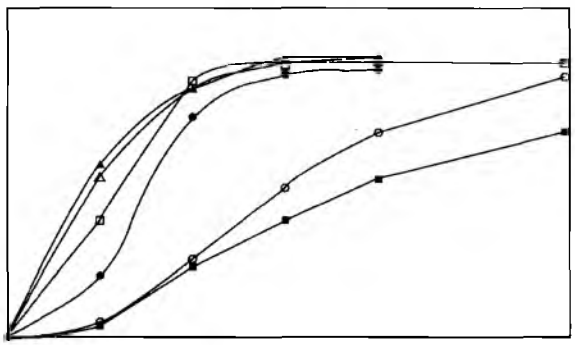


图 7　利福平的粒径对溶出的影响，采用 USP XVIII 方法，介质为 JP IX 第一种介质。利福平粒径：□及■，42～80 目；△及▲，80～100 目；○及●，＜200 目。实心符号，硬脂酸镁为 0.5%；空心符号，不加硬脂酸镁[51]

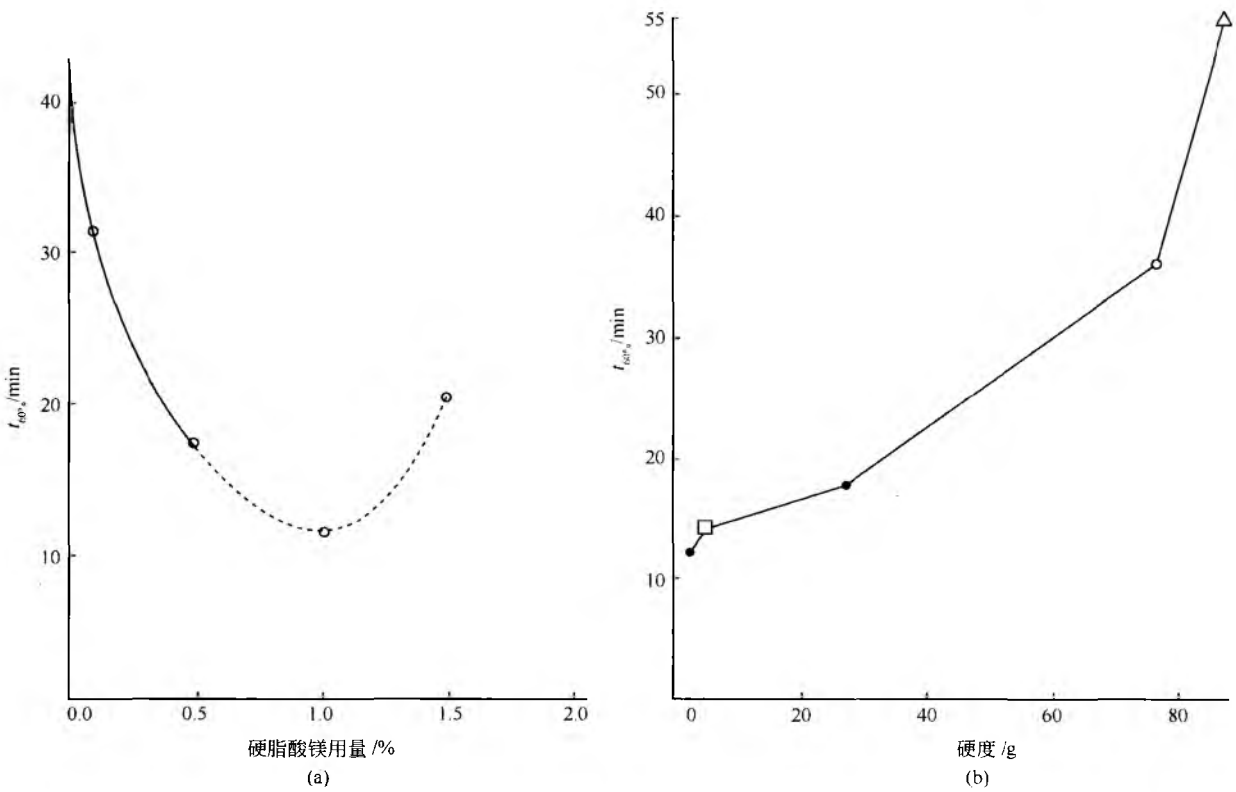


图 8　氢氯噻嗪从胶囊中的释放，60%溶出时间。所有处方在 Zanasi LZ64 以同样的压力填充：(a) 硬脂酸镁浓度的影响，微晶纤维素填充剂、压力 15kg；(b) 塞状物硬度的影响，微晶纤维素填充剂、压力 21.7kg[55]

Y

1970年首次提出将难溶活性成分溶解或混悬于聚乙二醇中，以改善其释药速率[57]。之后，开发出了硬胶囊的半固体骨架填充物，才将这一简单的概念变成实际应用[20]。这一制剂技术为控制活性药物从胶囊中释放提供了新的方法，可改善或延迟释药。该技术将活性成分分散或溶解在具有适当熔点和HLB值的辅料中[20]。通过改变单一辅料的性质就有望改善活性药物从这一骨架胶囊中释放的速率[57]。这一技术的另一优点是，当遇到强效的或有毒的药物时，可以显著降低同一区域内的交叉污染[58]。一旦将活性药分散在半固体基质中，可不需要洁净区而安全地处理药物，与粉体物料不同，半固体骨架中的物料不会分散到周围环境中。

5. 处方优化与专家系统

药物处方要符合多种需要，要能被机器填充而成为均匀、稳定的产品，要以特定的方式释放药物以达到预期的治疗效果，必须符合法规和法定标准。处方所采用的辅料往往在一方面具有有利的性质，但同时在另一方面也会有负面的影响。多种因素之间的关系是复杂的。可采用多种统计学工具优化处方以达到各影响因子的最佳值[59]。

获得最佳处方的另一个方法是采用所谓的专家系统设计处方。这种计算机软件基于神经网络和知识系统[60,61]。它有两种作用，其一，提出可行性处方从而缩短研发时间；其二，在这一领域中作为教学工具传播专家知识。

参 考 文 献

1. Jones, B. E. Hard Capsules, Development and Technology; Ridgway, K., Ed.; Chaps. 1, 4, and 6, Pharmaceutical Press: London, 1987.
2. Jones, R. T. Hard Capsules, Development and Technology; Ridgway, K., Ed.; Chaps. 2 and 3, Pharmaceutical Press: London, 1987.
3. BSE Vademecum, Information for Consumers, 3rd Ed.; Directorate General XXIV, European Commission: Brussels, 1998; 63.

4a. G. S. Technologies Inc., Method for the Manufacture of Pharmaceutical Cellulose Capsules US Patent 5 698 155, Dec. 16, 1997.

4b. Apparatus for the Manufacture of Pharmaceutical Cellulose Capsules US Patent 5 750 157, May 12, 1998.

4c. Method for the Manufacture of Pharmaceutical Cellulose Capsules US Patent 5 576 036, May 26, 1998.

5a. Shionogi Qualicaps Co., Ltd., Hard Capsule for Pharmaceutical Drugs and Method for Producing Same US Patent 5 264 223, Nov. 23, 1993.

5b. Hard Capsule for Pharmaceutical Drugs and Method for Producing Same US Patent 5 431 917, Jul. 11, 1995.

5c. Capsule Shell US Patent 5 756 123, May 26, 1998.

5d. Hard Capsules European Patent 0 592 130 B1.

6. American Federal Standard No. 285A. Capsules (for Medicinal Purposes); General Services Administration: Washington, DC, 1976; 20.
7. Ogura, T.; Matsuura, S. HPMC Capsules—An Alternative to Gelatin. Pharm. Technol. Europe 1998, 10 (11), 32, 34, 36, 40, 42.
8. York, P. Analysis of Moisture Sorption Hysteresis in Hard Gelatin Capsules, Maize Starch, and Maize Starch: Drug Mixtures. J. Pharm. Pharmacol. 1981, 33, 269—273.
9. Chang, R.-K.; Raghavan, K. S.; Hussain, M. A. A Study on Gelatin Capsule Brittleness: Moisture Transfer between the Capsule Shell and its Content. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 556—55.
10. Jones, B. E. New Thoughts on Capsule Filling. S. T. P. Pharma Sci. 1998, 8, 277—283.
11. Jones, B. E. Powder Formulations for Capsule Filling. Mfg. Chem. 1988, 59 (7), 28—30 & 33.
12. Davar, N.; Shah, R.; Pope, D. G.; Augsburger, L. L. The Selection of a Dosing Disk on a Hofliger—Karg Capsule—Filling Machine. Pharm. Tech. 1997, 21 (2), 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 and 46.
13. Augsburger, L. L. Instrumented Capsule Filling Machines. Methadology and Application to Product Development. S. T. P. Pharma 1988, 4, 116—122.
14. Cropp, J. W.; Augsburger, L. L.; Marshall, K. M. Simultaneous Monitoring of Tamping Force and Pin Displacement (F-D) on an Hofliger and Karg Capsule Filling Machine. Int. J. Pharmaceut. 1991, 71, 127—136.
15. Jolliffe, I. G.; Newton, J. M.; Cooper, D. The Design and Use of an Instrumented mG2 Capsule Filling Machine Simulator. J. Pharm. Pharmac. 1982, 34, 230—235.
16. Britten, J. R.; Barnett, M. I.; Armstrong, N. A. Studies on Powder Plug Formation Using a Simulated Capsule Filling Machine. J. Pharm. Pharmacol. 1996, 48, 249—254.
17. Heda, P. K.; Muller, F. X.; Augsburger, L. L. Capsule Filling Machine Simulation. I. Low Force—Force Powder Compression Physics Relevant to Plug Formation. Pharm. Dev. Technol. 1999, 4, 209—219.
18. Hofer, U. Trockene Füllgüter. Die Kapsel, Grundlagen, Technologie und Biopharmazie einer moderne Arzneiform; Fahrig, W., Hofer, U., Eds.; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart, 1983; 83—111, Ch. V.
19. Cartensen, J. T. Pharmaceutics of Solids and Solid Dosage Forms; John Wiley & Sons: New York, 1977; 138—142.
20. Bowtle, W. J. Liquid Filling of Hard Gelatin Capsules—New Technology for Alternative Formulations. Pharm. Technol. Europe 1998, 10 (10), 84, 86, 88—90.
21. 21 CFR Part 211, Docket No. 92N-0314, Federal Regis-

ter, Vol. 63, Nov. 4 1998, 59463—59471.

22. Shah, N. H.; Phuapradit, W.; Ahmed, H. Liquid/Semi-Solid Filling in Hard Gelatin Capsules: Formulation and Processing Considerations. Bull. Tech. Gattefossé 1996, 89, 27—37.
23. Patel, R.; Podczeck, F. Investigation of the Effect of Type and Source of Microcrystalline Cellulose on Capsule Filling. Int. J. Pharm. 1996, 128, 123—127.
24. Podczeck, F.; Sharma, M. The Influence of Particle Size and Shape of Components of Binary Powder Mixtures on the Maximum Volume Reduction Due to Packing. Int. J. Pharm. 1996, 137, 41—47.
25. Podczeck, F.; Lee-Amies, G. The Bulk Volume Changes of Powders by Granulation and Compression with Respect to Capsule Filling. Int. J. Pharm. 1996, 142, 97—102.
26. Podczeck, F.; Claes, L.; Newton, J. M. Filling Powdered Herbs into Gelatine Capsules. Mfg Chem. 1999, 60 (2), 29—31 & 33.
27. Podczeck, F. Rheological Studies of the Physical Properties of Powders Used in Capsule Filling. I, II. Pharm. Technol. Europe 1999, 11 (9), 16, 18, 20—21 & 24 and 11 (10), 34, 36, 38, 40 & 42.
28. Tan, S. B.; Newton, J. M. Influence of Capsule Dosator Wall Texture and Powder Properties on the Angle of Wall Friction and Powder-Wall Adhesion, and Capsule Filling Performance of Powders with Dosator Nozzles of Different Wall Texture. Int. J. Pharm. 1990, 64, 227—234 & 66: 207—211.
29. Podczeck, F. Investigations into the Reduction of Powder Adhesion to Stainless Steel Surfaces by Surface Modifi-cation to Aid Capsule Filling. Int. J. Pharm. 1999, 178, 93—100.
30. Avgoustakis, K.; Anthanasiou, A.; Georgakopoulos, P. P. Effect of Helix Characteristics on the Dissolution Rate of Hard Gelatin Capsules. Int. J. Pharm. 1992, 79, 67—69.
31. Ludwig, A.; Van Ooteghem, M. Disintegration of Hard Gelatin Capsules. III. Penetration and Diffusion of Liquid through the Capsule Wall Investigated by Scanning Electron Microscopy. Pharm. Ind. Berl. 1980, 42, 1040—1043.

31a. Method of Measuring the Time of Rupture of the Capsule. Pharm. Ind. Berl. 1980, 42, 1140—1141.

32. Jones, B. E. Disintegration of Hard Gelatin Capsules. Chem. Pharm. Bull. 2000, 48, 951—956.
33. Jones, B. E.; Cole, W. V. J. The Influence of Test Conditions on the Disintegration Time of Gelatin Capsules. J. Pharm. Pharmacol. 1971, 23, 438—443.
34. Chiwele, I.; Jones, B. E.; Podczeck, F. S. S. M. Formulation and Capsules: An Improved Way to Handle Toxic Compounds.
35. Cartensen, J. T.; Rhodes, C. T. Pellicule Formation in Gelatin Capsules. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19, 2709—2712.
36. Digenis, G. A.; Gold, T. B.; Shah, V. P. Cross-Linking of Gelatin Capsules and its Relevance to their In Vitro-In Vivo Performance. J. Pharm. Sci. 1994, 83, 915—921.
37. Hard and Soft Gelatin Capsules: Issues, Research and Outcomes. Pharm. Res. 1997, 14 (12), Podium Session, AAPS Convention, Boston, 1997.
38. Brown, J.; Madit, N.; Cole, E. T.; Wilding, I. R.; Cadé, D. The Effect of Cross-Linking on the In Vivo Disintegration of Hard Gelatin Capsules. Pharm. Res. 1998, 15, 1026—1030.
39. Jones, B. E. The Two-Piece Gelatin Capsule and the Gastro-Intestinal Tract. S. T. P. Pharma Pratiques 1991, 1, 128—134.
40. Wilson, C. G. Washington, N. Assessment of Disintegration and Dissolution Dosage Forms In Vivo Using Gamma Scintigraphy. Drug Dev. Ind. Pharm. 1988, 14, 211—281.
41. Evans, K. T.; Roberts, G. M. Where do all the Tablets Go? Lancet 1976, ii, 1231—1239.
42. Hey, H.; Jørgensen, F.; Sørensen, K.; Hasselbach, H.; Wamberg, T. Oesophageal Transit of Six Commonly Used Tablets and Capsules. Br. Med. J. 1982, 285, 1717—1719.
43. Hunter, E.; Fell, J. T.; Calvert, R. T.; Sharma, H. "In Vivo" Disintegration of Hard Gelatin Capsules in Fasting and Non-Fasting Subjects. Int. J. Pharm. 1980, 4, 175—183.
44. Timmermans, J.; Mōes, A. J. Factors Controlling the Buoyancy and Gastric Retention Capabilities of Floating Matrix Capsules: New Data for Reconsidering the Controversy. J. Pharm. Sci. 1994, 83, 18—24.
45. Kalala, W.; Kinget, R.; Van den Mooter, G.; Samyn, C. Colonic-Drug Targeting: In Vitro Release of Ibuprofen from Capsules Coated with Poly (Ether-Ester) Azopolymers. Int. J. Pharm. 1996, 139, 187—195.
46. Ishibashi, T.; Hatano, H.; Kobayashi, M.; Mizobe, M.; Yoshino, H. Design and Evaluation of a New Capsule—Type Dosage Form for Colon-Targeted Delivery of Drugs. Int. J. Pharm. 1998, 168, 31—40.
47. Leino, J.; Haavisto, H.; Tomminen, T.; Heinilä, K.; Eerikäinen, S.; Klinge, E.; Marvola, M. Development of Rectally Administered Prolonged Release Hard Gelatin Capsules Using Different Polymers as Diluents. S. T. P. Pharma Sci. 1997, 7, 348—353.

Y

48. Srichana, T.; Martin, G. P.; Marriott, C. On the Relationship between Drug and Carrier Deposition from Dry Powder Inhalers In Vitro. Int. J. Pharm. 1998, 167, 13—23.
49. Srichana, T.; Martin, G. P.; Marriott, C. Dry Powder Inhalers: The Influence of Device Resistance and Powder Formulation on Drug and Lactose Deposition. Eur. J. Pharm. Sci. 1998, 7, 73—80.
50. Newton, J. M.; Rowley, G. M. On the Release of Drug From Hard Gelatin Capsules. J. Pharm. Pharmac. 1970, 22 (Suppl.), 163S—168S.
51. Tyrer, J. M.; Eadie, M. J.; Sutherland, J. M.; Hopper, W. D. Outbreak of Anticonvulsant Intoxication in an Australian City. Br. Med. J. 1970, iv, 271—273.
52. Shangraw, R. F.; Demarest, D. A. A Survey of Current Industrial Practices in the Formulation and Manufacture of Tablets and Capsules. Pharm. Technol. 1993, 17 (1), 32—44.
53. Jones, B. E. Two-Piece Gelatin Capsules: Excipients for Powder Products, European Practice. Pharm. Technol. Europe 1995, 7 (10), 25, 28—30 & 34.
54. Nakagawa, H.; Mohri, K.; Nakashima, K.; Sugimoto, I. Effects of Particle Size of Rifampicin and the Addition of Magnesium Stearate on Release of Rifampicin from Hard Gelatin Capsules. Yakugaku Zasshi 1980, 100, 1111—1117.
55. Mehta, A. M.; Augsburger, L. L. A Preliminary Study of the Effect of Slug Hardness on Drug Dissolution from Hard Gelatin Capsules Filled on an Automatic Capsule—Filling Machine. Int. J. Pharm. 1981, 7, 327—334.
56. Harding, V. D.; Higginson, S. J.; Wells, J. I. Predictive Stress Tests in the Scale-Up of Capsule Formulations. Drug Dev. Pharm. 1989, 15, 2315—2338.
57. Chiou, W. I.; Riegelman, S. Oral Absorption of Griseofulvin in Dogs: Increased Absorption Via Solid Dispersions in Polyethylene Glycol 6000. J. Pharm. Sci. 1970, 59, 937—942.
58. Duclos, R.; Bourret, E.; Brossard, C. Rheology of Polyol Behenates and Drug Release from Matrix Capsules. Int. J. Pharm. 1999, 182, 145—154.
59. Bowtle, W. J.; Burrows, S. L.; Holmes, E. D.; Jones, B. E. Pharm. Res. 1989, 5 (12), PT612.
60. Hogan, J.; Shue, P-I.; Podczeck, F.; Newton, J. M. Investigations into the Relationship between Drug Properties, Filling, and the Release of Drugs from Hard Gelatin Capsules Using Multivariate Statistical Analysis. Pharm. Res. 1996, 13, 944—949.
61. Bateman, S. D.; Verlin, J.; Russo, M.; Guillot, M.; Laughlin, S. M. The Development and Validation of a Capsule Formulation Knowledge-Based System. Pharm. Technol. 1996, 20 (3), 174, 176, 178, 180, 182 & 184.
62. Lai, S.; Podczeck, F.; Newton, J. M.; Daumesnil. R. An Expert System to Aid the Development of Capsule Formulations. Pharm. Technol. Europe 1996, 8 (9), 60, 62, 64, 66 & 68.

（祝 林 译）

Y

用于药物输送的单克隆抗体

John B. Cannon
Ho-Wah Hui
Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A.
Pramod K. Gupta
TAP Pharmaceuticals, Deerfield, Illinois, U. S. A.

引言

有选择地把药物输送到作用靶点，能增强治疗的有效性，同时降低副作用。在 18 世纪早期，Paul Ehrlich 提出了抗体作为生物制品载体的设想和“魔法子弹”的概念。随着杂交瘤技术的发展，现在实际上能够无限量生产具有特异性的同源抗体，这就是单克隆抗体（MoAb），有可能实现 Ehrlich 的预见。同时单克隆抗体也能用于敏感的诊断试验中，单克隆抗体及其结合物在治疗中的应用正处于起步阶段[1~5]。

基本术语

简单来说，抗体就是一种当被外来分子（抗原，即抗体发生器）侵入免疫系统时，人体合成的免疫球蛋白，而且能够和抗原高度特异性地结合。通常一种抗原必须具有较大的相对分子质量（>1000）来引发免疫反应。当小分子和合适的大分子结合在一起的时候也可以产生抗原性，如白蛋白。

抗体是一种 Y 形的分子（图 1）[6]，由两条轻链和两条重链，经由二硫键结合在一起。每一条重链包含一个碳水化合物残基。抗体分子部分的底部“躯干”是恒定区（Fc），因为同一种动物的氨基酸顺序都是相似的。上部的“臂”，抗原结合部分（Fab）称为可变区，因为它的氨基酸序列是由负责其形成的抗原决定的。在可变区里还有几个“超变区”，也叫“补充决定领域”（complementarity determining region，CDR），比余下的可变区具有更强的可变性。

抗体可被分为以下几种：

多克隆抗体：当一种抗原被注射到动物体内后，若给药方式能最佳地诱导免疫反应，可以从动物收集血清，分离免疫球蛋白部分。这种抗血清里面含有多种原始抗原特异性抗体。因为这种抗血清里面含有大量的淋巴细胞，所以通过这种方法产生的抗体称为多克隆抗体。

单克隆抗体：当每一种免疫球蛋白由单一克隆细胞所产生时，产生的抗体称为单克隆抗体，因而在制备液中所有的免疫球蛋白分子都相同，重链和轻链结构均相同。因而它们具有很高的特异性，与多克隆抗体相比，它们能在体内产生更加一致的药效和可以预见的毒性[7]。

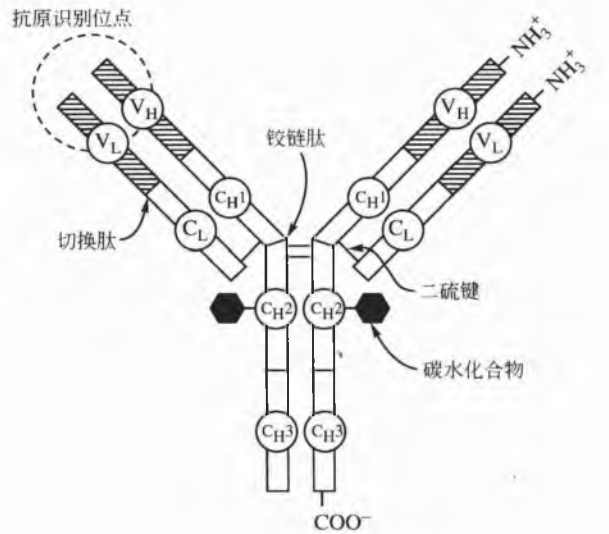


图 1　单克隆抗体分子示意图[6]

抗体片段：最早在动物和临床研究中检测到的单克隆抗体是鼠源性抗体。因为它们是非人起源的，因而能引起人的免疫反应，即产生一种人抗鼠抗体反应（HAMA）。而且它们在体内的清除率也比人 MoAb 更短。克服这些问题一种方法是，利用木瓜蛋白酶把抗体裂解成相对应的 Fc 和 Fab 片段［图 2（a）］。通常 Fab 片段比完整的抗体具有更低的免疫原性，而且因为它们分子较小，更容易进入肿瘤组织里[9]，因而具有更长的半衰期。但是它们有可能失掉一部分抗原结合能力，在一些场合，疗效可能取决于抗体的 Fc 部分。

嵌合抗体：解决鼠源性抗体问题的明显的办法是克隆一种完全的人抗体。然而生产人源性单克隆抗体所需的人体杂交瘤细胞非常难以培养，而且要获得很多合适的抗体通常是不可能的。解决鼠源性单克隆抗体 HAMA 问题的一种策略是组建嵌合抗体［图 2（b）］，它包含人 IgG 的 Fc 区，但是 Fab 区来源于鼠。这种嵌合抗体可以通过化学方法把鼠源性 Fab 片段连接到人源性 Fc 片段上，但是最好是用重组 DNA 技术，在后面的章节里会有详细的叙述。

人源抗体：虽然通过对人体的研究，揭示嵌合抗体比鼠源性抗体引起更低的 HAMA 反应，但是因为鼠源性（一般总分子的 30%），它们仍然具有免疫原性。当认识到只有抗体分子的一小部分和抗原结合，实际上仅为 CDR 区，我

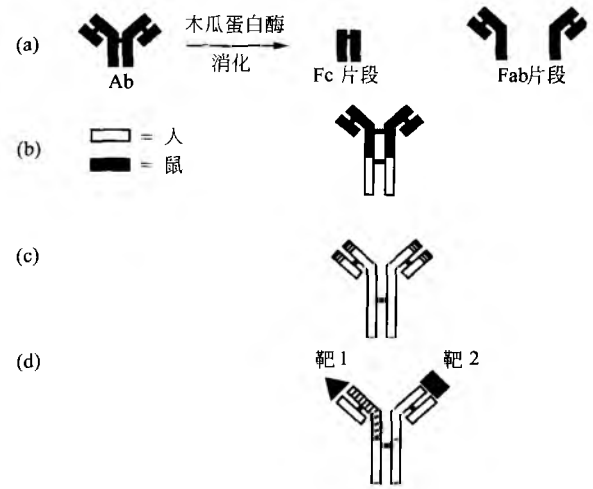


图 2 临床最重要的 MoAb 结构示意图。(a) 抗体片段；(b) 嵌合抗体；(c) 人源抗体；(d) 双特异性抗体[8]

们设想组建一种人源性抗体，其中抗体架构的大部分为人源性，除了 CDR 是来源于鼠［图 2 (c)］。这种人源抗体已经通过重组 DNA 技术成功地合成，而且和人抗体具有 95%以上的相同性（关于人源和嵌合抗体的术语文献中有些混淆，有些作者互换使用这些术语）。

双特异性抗体：能够通过重组 DNA 技术构建的一种新抗体，抗体“双臂”的每一个“臂”分别特异于两种不同的抗原［图 2 (d)］。例如，和 CD15 抗原反应的双特异单克隆抗体，含有抗 CD64 单克隆抗体 32 的 Fab 片段和完整抗骨髓细胞单克隆抗体 IgM，PM-81，曾被研究用于 CD15 阳性肿瘤患者，即急性髓细胞白血病、肺癌、结肠直肠癌和乳腺癌的治疗[10]。

免疫结合物：单克隆抗体靶向药物输送，是将一种药物共价地结合到经选择能靶向特定位点的抗体上。所形成的免疫结合物的药物和抗体之间可能含有一个隔离基，或者是一种能增加药物分子和每一个抗体结合药物数量的聚合物。另外一种可能性是放射免疫结合物，通过靶向抗体能够在靶点部位聚集，从而让结合的放射性同位素辐照而产生细胞毒性。或者，药物能够非共价地连接到表面带有靶向抗体的脂质体或微球上，分别形成免疫脂质体或免疫微球。

抗体的制备和生产以及抗体输送系统

1. 生产

在动物体内，每一个 B 淋巴细胞能够表达唯一一种特异性的抗体。当它受激活分化后，B 淋巴细胞转变成血浆细胞，从而细胞器合成和分泌大量独特的免疫球蛋白。为了制备单克隆抗体，通常小鼠用目标抗原免疫，如人肿瘤细胞。当免疫反应被引发后，收集从动物的脾脏或淋巴结产生的 B 淋巴细胞于单一的细胞混悬液中。这些细胞然后利用融合剂（如 PEG）或者电流和来自同一物种的骨髓瘤细胞融合[11]。通常利用变异的骨髓瘤细胞来进行融合，这种突变细胞缺乏次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶（HGPRT），它是细胞在叶酸拮抗剂——氨基蝶呤存在下生存所必需的。所产生的融合细胞的细胞器能够进行细胞分裂以及产生大量的免疫球蛋白，细胞混悬液然后转移到培养板的小孔里进行培养，其中含有次黄嘌呤/氨基蝶呤/胸腺嘧啶培养基。只有通过细胞融合从淋巴细胞获得 HGPRT 的杂交瘤可以存活。这种杂交细胞可以通过限定稀释到每孔一个细胞而被克隆，因而非常容易鉴定目标抗体的效价、特异性和当大量培养时的繁殖能力。细胞上清液可以通过柱或亲和色谱来纯化收集纯的抗体。

对于嵌合和人源性的单克隆抗体的制备，上述的步骤要进行一定程度的改进。对于人源化抗体比较好的方法是利用重组 DNA 技术，通过连接适当的 DNA 序列到杂交瘤载体，构建一个表达嵌合或者人源化抗体的基因。这种人源化的抗体的合成已经通过重组 DNA 技术获得成功，利用转染技术编码鼠的 CDR 区域的基因已被连接到编码人抗体的基因中。虽然这些构建体比鼠源性或者嵌合抗体具有更低的免疫原性，以前的研究显示它们比鼠源性单克隆抗体具有更低的抗原结合能力。这明显是因为在人抗体结构中缺少一定的残基，它们不是直接和抗原结合有关，但是在维持 CDR 区域的正确构象上是必需的。选择抗体结构和鼠抗体尽可能同源的人 IgG 有助于解决这几个问题。另外建立在 X 射线结晶技术上的分子模型技术以及计算机模型可以用来鉴定所必需的残基，再利用重组技术向框架区域导入所必需的残基[12]。

因为单克隆抗体在诊断和治疗上的应用不断增加，人们做出了很大的努力来开发大规模生产技术。目前采用的培养系统有中空纤维系统、悬浮系统、固相细胞固定技术、灌注反应器、包裹入半渗透性的载体中[13,14]。合适系统的选择是根据细胞株以及目标产物的量和性质决定的。为了增加细胞培养设备的搅拌效率和供养能力，设计了几种不同的设备，如振荡混合器、螺旋桨叶、涡轮桨叶、磁力搅拌以及气生装置[14,15]。

灌注系统也已经应用于单克隆抗体的大规模生产中。在培养阶段，细胞呈指数生长直至达到最高浓度。此时需要不停地提供新的营养和移除废物。在灌注系统中，能不停地提供新鲜的营养，废物能连续地取走，所以培养基能适合细胞生长的生理需求。在稳态时，细胞浓度是由空间和其他限制所决定的，当细胞被固定在多孔陶瓷载体或中空纤维装置中时可以得到很高的细胞浓度。采用带旋转过滤的灌注反应器，或流化床反应器可以得到中等的细胞浓度，此时细胞嵌入于海绵样的微载体中[14,15]。

2. 抗体药物结合物的构建方法

设计一个抗体介导的药物输送系统，很重要的部分是抗体和药物的结合物偶联方法。药物可以共价地直接或者通过一个短的隔离基连接到单克隆抗体上，或者两者可以

通过一个结合物如水溶性的聚合物而连接起来。另外，也可以利用像脂质体或者是聚合物微球这样的载体，药物被包埋或者结合在载体上，而单克隆抗体则连接在载体的表面。一种理想的抗体介导的药物输送系统的特征是，制备方法具有很高的效率和产率，而且能使生产规模扩大；结合物在有效期以及经注射后在循环系统中具有很高的稳定性；当携带药物到达靶组织时抗体能保留抗原结合能力；最后，当到达靶点时，免疫结合物本身应该具有和游离药物一致的药理效应，或必须能释放出具有完整药效的游离药物或其衍生物。虽然在大部分临床应用中要想获得这种系统几乎是不可能的，幸运的是现在已有几种偶联剂可以优化免疫结合物的性质。

氨基、巯基和羧基是在抗体、载体和药物分子中最常用于偶联的基团。如果药物不具有所希望的基团，可以将基团引入。例如，如图 3 所示，琥珀酸酐能把羟基或氨基转变成羧基［图 3（a)］，2-亚氮基硫代坊［Traut's 试剂，图 3（b)］能把氨基转变成巯基。

在把药物连接到抗体上，“经典”蛋白交联剂可用来制备免疫结合物。例如，碳化二亚胺试剂［双环己基碳化二亚胺，DCC，图 3（c）及其水溶性同类物］通过酰胺键将氨基和羧基基团连在一起。在一种“活性酯”方法中，药物的羧基在碳化二亚胺存在下连接到 *N*-羟基琥珀酸［NHS，图 3（d)］上，形成药物的活性酯衍生物，然后能和抗体的氨基基团反应[16]。像右旋糖酐这样的结合物能把大量的药物分子连接到一个抗体上。因而，右旋糖酐及其他类似的碳水化合物结合物被高碘酸［图 3（e)］氧化形成醛基，然后连接到药物和抗体的氨基基团形成亚胺。这种产物通过与氰基硼氢钠反应而稳定。

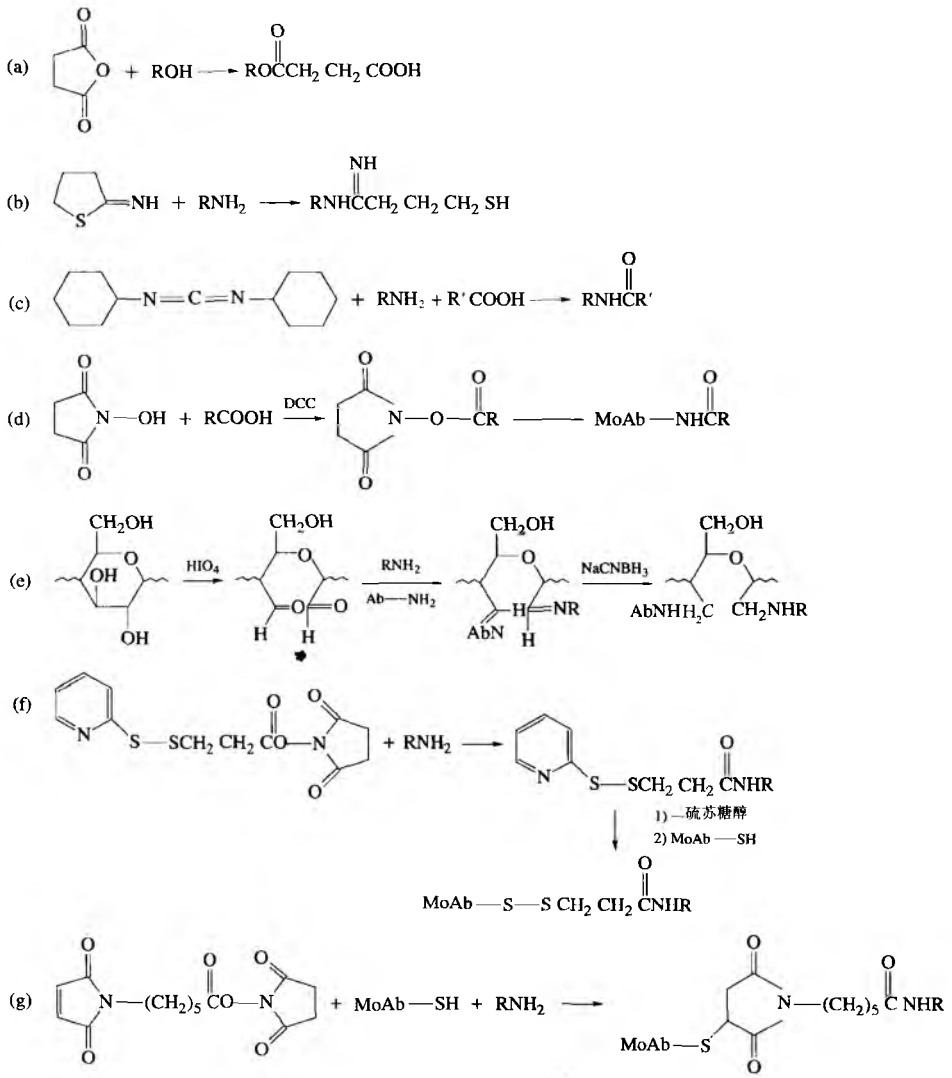


图 3　药物与单克隆抗体结合的偶合剂及相关的反应

以上这些简单的反应并不具备足够的特异性来形成有效的免疫结合物。最近，在药物和抗体的结合上出现一些具有更高特异性的双功能试剂。异性双功能剂在分子的两个末端具有两个不同的反应基团，已经成为制备免疫结合

Y

物的优选方法之一。最常用的是利用 *N*-琥珀酰 3-（吡啶基二硫）丙酸酯［SPDP，图 3（f）］，通常该试剂用于带有吡啶基二硫基团的药物衍生反应，SPDP 和带有游离巯基的抗体反应产生免疫结合物。*N*-［-6 马来酰亚胺己酰基］氧］琥珀酰胺［EMCS，图 3（g）］是一种和琥珀酰亚胺末端的氨基及顺丁烯二酰亚胺末端的巯基反应的试剂。一种类似的试剂，*N*-［4 马来酰亚胺乙氧基琥珀酰氧基］琥珀酰胺（MESS），能在两个活性官能团间形成可代谢的酯连接，从而提供了控制游离药物释放的方法[17]。经典的偶联方法和双功能试剂的结合在免疫结合物的制备上具有优势。例如，一个末端为羧基的 6 碳隔离基被引入右旋糖酐（M_w = 70 000），然后丝裂霉素 C（MMC）被连接到隔离基的碳化二亚胺上。余下的隔离基的羧基基团被修饰成氨基基团，然后通过 SPDP 和单克隆抗体 A7 偶联，MMC 与 MoAb 的最终比为 40。结合物的抗体活性与自然的 MoAb A7 几乎一致，然后通过化学水解释放 MMC，从而维持细胞毒性[18]。类似地，Zara 等通过氧化人癌抗体 IgM 的碳水化合物残基，再与双功能试剂 *S*-（2-硫吡啶基）-L-半胱氨酸酰肼（TPCH）进行酰肼反应。蓖麻毒素 A 通过二硫键偶合到该试剂的另一端后，生成的免疫结合物保留了全部的毒性和抗体活性，每个抗体结合多达 16 个 TPCH 分子，表明抗体的碳水化合物残基没有参与抗原结合过程[19]。

血浆或者胞内酶，如酯酶或者蛋白水解酶，能够降解免疫结合物的连接。谷胱甘肽还原酶和与它相关的酶能够裂解免疫结合物的二硫键。靶组织周围的 pH 或者它的细胞内环境（如溶酶体）能加快药物从结合物中的释放速度。因此，当注射免疫结合物以后考察可能的生理目的地，模拟在生理环境下的降解是很重要的。理想的免疫结合物在循环系统中要能足够稳定地到达靶部位；一旦在靶点细胞表面抗体和对应的抗原结合，完整的免疫结合物应该能进入到细胞，而且能被降解并释放出游离药物或者活性衍生物。然而对于许多类型的细胞来说，抗原抗体结合以后免疫结合物并不能进入到细胞内部。在这种情况下，免疫结合物的连接部分应该能很快被降解，以提供局部高浓度的游离药物或者活性衍生物，从而发挥所需的药理作用。双功能试剂的优点在于可以连接一个可代谢的结合物到免疫结合物中，因而能以人们期望的速率释放游离药物或者活性衍生物。

大量的研究正在探索控制活性药物在体内释放速度的偶联方法。Kaneko 等设计了一种腙结合物，能够在较低的 pH 条件下释放出药物：抗体结合物在 37℃ pH4.5 的环境下（模拟溶酶体环境）6h 以内就可以释放出游离阿霉素[20]；类似地，Lavie 等构建了柔毛霉素结合物，通过聚赖氨酸和顺乌头酸酯连接到单克隆抗体 L6 上，在 pH6 时游离药物被释放出来。虽然这种抗体不能进入到细胞内部，但肿瘤组织的低 pH 条件可以提高药物在其中的浓度[21]。据报道一种新型异性双功能试剂在药物释放率上具有更多的灵活性。SPDP 结合体的二硫键在循环系统中不稳定，提前释放出药物；一种类似物，NHS-ATMBA 因为二硫键周围的位阻效应，比 SPDP 结合物稳定 100 倍以上，因此靶向效果更好[22]。人们合成了新的取代 2-亚胺基四氢噻吩试剂，形成的免疫结合物的二硫键更稳定[23]。

选择合适的隔离基也能明显提高构建免疫结合物的成功率。例如，O'Neill 及其同事将 *N*，*N*-双-（2-氯乙基）-对苯二胺（PDM）连接到家兔抗 EL4 血清中的球蛋白部分，与游离药物相比细胞毒性降低 20 倍。但是这种结合物会聚集，在临床上很难应用。因而采用聚-L-谷氨酸（PGA）作为一种隔离基来制备摩尔比为 90∶2∶1 水溶性的 PDM-PGA-Ig 结合物，能够保留原抗体活性的 66%[24]。

在免疫毒素和其他蛋白质-抗体结合物的构建上，存在一种特殊的方法，即这种结合物可以完全用重组 DNA 技术构建。这需要把两段基因拼接起来，并让这种嵌合基因在单克隆系统中得到表达。例如，编码血管生成素（一种人类毒素分子）的基因和编码反转铁蛋白受体的基因融合在一起，然后这种嵌合基因被引入转染体中克隆能够分泌杂交的抗体血管生成素蛋白的细胞株。结合物具有细胞毒的活性，该活性由转铁蛋白受体调节[25]。类似的技术用于构建尿激酶类的血浆酶原活化剂和人源的抗血纤维蛋白抗体结合物，从而结合物溶解纤维蛋白的活性比未结合的尿激酶增大 12 倍[26]。采用该方式构建免疫结合物的优点是一旦克隆表达，可以一步构建免疫结合物而不需要化学修饰，同时该方式只产生单一物种。优点还有通常只产生 1∶1 或 2∶1 的药物与抗体结合比的免疫结合物。

非结合的单克隆抗体和放射性免疫结合物的免疫疗法

在过去的十多年中，几种非结合的单克隆抗体已经上市用于癌症治疗、肾移植和其他适应证（表 1）。临床试验的结果表明非结合的单克隆抗体能够杀死癌症和其他细胞。当循环中的单克隆抗体抵达靶点并和抗原结合以后，以下是能引发治疗效果的几种机制。一种是抗体介导的细胞毒性（ADCC），其中中性细胞、单核巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、自然杀伤细胞以及 T 细胞，具有 IgG 受体（Fc），能引起细胞破坏[27]。补体介导的细胞毒性（CDC）也很重要，其中补体连接到单克隆抗体的 Fc 部分，从而触发补体链反应导致细胞死亡。连接到抗原细胞表面的单克隆抗体也可作为一种“阻碍”抗体，阻碍细胞生长所需的特定多肽或生长因子和细胞的结合，或者引发细胞代谢上的一种调控效应，特别是 B 淋巴细胞和 B 细胞淋巴瘤。单克隆抗体和生长因子受体（如转铁蛋白受体）相互作用，通过一种调控机制，也可能具有抗肿瘤作用。因为转铁蛋白是细胞生长所必需的，而且它的受体在分化细胞中大量存在[28]。

表 1 已经上市的治疗用单克隆抗体药物

通用名	商品名	MoAb 类型	用途
利妥昔单抗	Rituxan（IDEC/Genentech）	嵌合抗 CD20	非霍奇金淋巴瘤
Trasuzumab	Herceptin（Genentech）	人源抗 HER2	转移性乳腺癌
Palivizumab	Synagis（Medimmune）	人源抗-RSV 抗原决定基	抗病毒（儿童下呼吸道疾病）
莫罗莫那-CD3	Ortoclone OKT3（Ortho）	鼠源抗 CD3	免疫抑制（肾移植）
达利珠单抗	Zenapax（Roche）	人源抗 CD25	免疫抑制（肾移植）
Abciximab	ReoPro（Centocor）	嵌合抗 7E3 Fab 片段	血小板凝聚抑制（心肌干涉）
Basiliximab	Simulect（Novartis）	嵌合抗 CD25	免疫抑制（肾移植）

最成功的是利妥昔单抗（Rituxan），该单克隆抗体连接到 B 淋巴细胞的 CD20 抗原上，这种抗原在非霍奇金淋巴瘤 B 细胞中有 90%以上的表达。连接后单克隆抗体的 Fc 区起到免疫效应器功能，也许是通过 CDC 和 ADCC 机制，介导 B 细胞的溶解。在一个多中心临床实验中，166 例非霍奇金淋巴瘤患者每天接受 4 个剂量 375mg/m^2 的药物，患者总体药物反应率为 48%（6%完全反应，42%部分反应）。另一项 37 例患者的研究也给出相类似的反应率，而且可耐受单剂量给药高达 500mg/m^2[29]。

Tratsuzumab（Herceptin）与跨膜蛋白的细胞外部分结合，该部分为人表皮生长因子受体 2（HER2），该因子在 20%～30%原发性乳腺癌细胞中过度表达，主要通过ADCC 起作用。在Ⅲ期临床试验中，222 例乳腺癌患者表现为 HER2 过度表达，在 4mg/kg 的首剂剂量后，每周给予 2mg tratsuzumab/kg，总有效率 14%，2%完全有效，12%部分有效，看起来与 HER2 表达程度相关。总有效率比 tratsuzumab 和普通化疗药联用要好得多，如紫杉醇、阿霉素＋环磷酰胺，或 epiubicin＋环磷酰胺：与单用化疗药相比高 45%[30]。类似的，在小鼠接种肿瘤模型中，tratsuzumab 与顺铂合用，不管是 PEG 化的脂质体还是生理盐水/甘露醇溶液，延缓肿瘤生长均比单独使用明显要好[31]。

一些研究者提出利用反基因抗体作为一种“肿瘤疫苗”。在这个方案中，制备一种抗特定肿瘤抗原的单克隆抗体，而不是直接利用它作免疫治疗。用它接种小鼠，产生抗-原抗体位点的第二抗体（因而为反-基因型）。在克隆以后给患者服用，这种反-基因单克隆抗体可以动员患者自身的免疫系统产生第三种抗体（反-反-基因型），这种抗体具有和第一抗体同样的基因型，能和原始抗原结合引起细胞毒性[27]。这项技术的优势在于“疫苗”的乘法效应，而且被认为比应用抗原本身作为疫苗具有更高的特异性和安全性。15 例恶性黑素瘤患者在接受了这种鼠反-基因抗体治疗后，其中 7 例患者产生所希望的免疫反应，3 例为部分反应[32]。因而，虽然这是一种很有发展潜力的方法，但仍然需要更完整的评价来决定其应用。

虽然单克隆抗体在肿瘤治疗上具有很多有潜在的应用，但是也有一些其自身固有的问题需要解决：①癌细胞是异源性的，因而那些不被单克隆抗体识别的细胞就有可能逃逸并且增殖；②一些肿瘤含有半死核，血液循环不好，因此单克隆抗体不容易到达这些细胞；③单克隆抗体在到达靶点以前可能和循环系统中的靶点抗原结合；④有些患者可能引起免疫反应。因为这些原因，通常单克隆抗体疗法和常用的化疗法结合使用更加有效。

放射免疫结合物是单克隆抗体和放射性核素的结合物，在单克隆抗体和它的靶点抗原结合后能释放出具有细胞毒性的放射线。最常用的同位素是^{131}I 和^{90}Y，它们是一种 β 放射线，半衰期分别是 8d 和 2.5d。^{131}I 通过常用的化学技术和单克隆抗体的酪氨酸共价连接，而^{90}Y 是螯合到已连接到单克隆抗体的配体上，如二乙烯三胺五乙酸配体采用混合酐的方法偶合[33,34]。^{131}I 和^{90}Y 的放射性核能够到达最终位点的 1～5mm 深的地方，相当于几个细胞直径。因而它们主要的优点在于能够杀死抗体不容易到达的肿瘤细胞和（或）不存在抗原的肿瘤细胞。和常规的放疗不同的是，放射免疫结合物随着放射性核的衰变能够发出连续不断的放射线，从而使癌细胞无法修复自身受到的损害[35]。除了放射性核的作用外，根据单克隆抗体的种类不同，抗体自身也能引发 CDC 和 ADCC 机制来杀死肿瘤细胞。

虽然现在还没有放射免疫结合物上市，但是有不少正处于临床试验阶段。Bexxar（^{131}I-托西莫单抗）是一种用于治疗非霍奇金淋巴瘤的抗 CD20 的单克隆抗体，目前正在Ⅲ期临床试验[36]。在该放射免疫结合物前期的临床实验中，19 例患者接受了 234～777 mCi^{131}I 抗 CD20 单克隆抗体治疗。因为这个剂量被认为很离谱，患者在治疗后接受了自体骨髓细胞再灌注。虽然有高剂量辐照的副作用，仍然发现 16 例患者能够产生完全的药物反应，另外 2 例患者产生部分反应。组织暴露的 MTD 为≤2700cGy[37,38]。同样给药方法的Ⅱ期临床试验 21 例中有 17 例完全反应，12 人月病情无恶化的生存率为 81%[35]。

单克隆抗体在药物输送上的应用

1. 靶向基本原理

一些类别的药物缺乏对疾病细胞的特异性，例如，化疗试剂对于所有快速增殖的细胞都具有细胞毒性，因为这种非特异性，许多药物具有较低的治疗指数，而且往往带来严重的副作用。一种解决办法就是让药物直接输送到所

希望的作用位点，或者是主要攻击疾病细胞，这个过程就叫靶向。靶向的药物输送系统能够分为三类，即被动、物理和主动靶向[39]。被动靶向指的是药物输送系统在体内的自然分布，是由载体的自身性质（如表面的疏水和亲水特性、粒子大小和形状、表面电荷和粒子数）所决定的。例如，调整粒子大小，使其分别大于 7μm 或者在 0.2～7μm，能够使它们被动地靶向到肺或者网状内皮系统（RES）[40]。

物理靶向是利用一些环境的特性来引导载体进入到特异的位点或者是激发药物在此位点释放。通常它是通过一些外源性的机制来完成的，例如，诱导局部高热（如热敏感性脂质体）或者是局部定位磁场（如磁性微球）。在主动靶向中自然的载体分布模式被调节成靶向器官、组织或者细胞。虽然细胞特异性配体常被用来使载体靶向特异的细胞类型，但这个方法还只局限于很少的肿瘤类型。单克隆抗体会在主动靶向中成为更常用的模式。虽然这个领域的发展不如非结合的单克隆抗体和放射免疫结合物，但是在利用单克隆抗体作为靶向剂的靶向毒素（如免疫毒素）和药物（如药物免疫结合物）上面也取得了一些成功。

2. 毒素结合物

在过去的 20 多年中，一些有毒蛋白如白喉毒素和蓖麻蛋白被连接到肿瘤特异性抗体上，在肿瘤药物输送上取得了不小的成功。有几种植物产生的毒素（如蓖麻蛋白、相思豆毒素、α-皂草毒素蛋白以及 gelonin）或者细菌产生的毒素（如白喉毒素和假单胞菌外毒素）被用来构建免疫毒素。这些毒素具有很高的活性，通常单个的毒素分子就足够致死细胞[36]。大多数天然的毒素含有两条链（如蓖麻蛋白 A 和 B 链），其中一条能和细胞表面非特异地结合，另一条可引起细胞毒性。当构建一个免疫毒素，非特异性的结合链（既蓖麻蛋白 B 链）必须被除去或者掩盖起来，而细胞毒性链（既蓖麻蛋白 A 链）通过化学的或者重组技术连接到单克隆抗体上。大多数植物来源的毒素通过失活核糖体蛋白合成来发挥细胞毒性，这就需要它们进入细胞内部（内在化）。还有一些不需要进入细胞内部，而是通过细胞溶解机制和膜反应，这些包括细菌 α-溶血素、链球菌溶血素和海葵毒素。在一种免疫毒素的Ⅰ期临床试验中，一种抗 CD22 单克隆抗体的 Fab′片段被连接到蓖麻蛋白 A 上，然后给 15 例患者使用，MTD 为 75mg/m^2，部分反应率达到 38%[42,43]。在另外 9 个临床试验中，200 名患者接受了各种蓖麻蛋白的免疫毒素，结果只有 3% 的完全反应和 12% 的部分反应[43]。免疫毒素固有的免疫原性可能是不成功的部分因素。对于蓖麻蛋白结合物，剂量限制的毒性也源于血管渗漏综合征，表现为液体渗漏到细胞间隙。临床试验也表明血管形成差的肿瘤不适合用免疫毒素治疗[43]，可能是因为它们的相对分子质量较大。为了具有更强的穿透力和更低的免疫原性，需要将免疫毒素和靶向分子制得更小。

3. 药物免疫结合物

在过去的几十年间，许多抗肿瘤剂，包括苯丁酸氮芥、甲氨蝶呤、柔毛霉素和阿霉素被连接到肿瘤特异的抗体上，在肿瘤药物的输送上取得不同程度的成功。研究得最为深入的是阿霉素-BR96 结合物（BMS-182248-1）。BR96 是一种在肿瘤细胞表面发现的、对 Lewis 抗原有特异性的嵌合式单克隆抗体。这种免疫结合物是利用一种酸性条件下不稳定的腙结合物，通过单克隆抗体上的硫醇基团而结合形成的，每摩尔的单克隆抗体带有 8mol 的阿霉素。当迅速地进入到带有抗原的细胞后，这种结合物能够在溶酶体的酸性环境下很快地释放出游离阿霉素[45]。在用带有人体肺、乳腺和大肠癌的异体移植小鼠进行实验时，在肺和大肠的模型中治愈率分别为 89% 和 72%（肿瘤减小到低于检测限）。在乳腺癌的异种移植小鼠中结果没有这么理想，完全反应率为 10%，部分反应率为 60%。而单独的阿霉素或者单克隆抗体在任何一种模型中的治愈率都低于 1%[46,47]。在大鼠肺癌异体移植模型中，有 94% 的治愈率，但是和在小鼠模型中不同，Lewis 抗原在大鼠正常组织中也有表达[46,47]。

因为这些令人鼓舞的体内结果，免疫结合物的临床试验得以开始。采用体积排阻 HPLC 法测定其在不同 pH 的稳定性曲线，结果显示此结合物在 pH7.5 的时候最稳定。第一种降解途径是腙键的水解从而释放出阿霉素，第二种途径是聚集。ELISA 分析也证实，储存在 2～8℃条件下一周后结合物仍然没有损失。然而，在这种温度的稳定性对于临床开发而言仍然是不够的，开发一种冻干制剂，采用蔗糖或乳糖作为冷冻保护剂，保留了它的无定形结构，因而显示出最大的稳定性，在 2～8℃保质期可以超过 12 个月[48]。在Ⅱ期临床试验中，BR96-阿霉素结合物用于 14 例转移乳腺癌患者，只有 1 例（7%）具有部分的药效反应，而对照组阿霉素单独给药却有 44% 的药效反应。两组的毒性具有很大的差异。阿霉素显示出常有的心血管方面和血液方面的毒性，而免疫结合物则显示出跟 GI 有关的毒性，这和Ⅰ期临床的研究结果很相似。有人认为Ⅱ期临床和临床前体内试验不相关的主要原因在于，在胃肠道存在 Lewis 抗原，作为“抗原水槽”，阻止肿瘤组织的靶向，并加剧胃肠道毒性[49]。结肠和肺癌模型得到比在乳腺癌中更好的临床应答反应，显示 BR96-阿霉素结合物在这些癌症的临床试验比在乳腺癌中更有前途[46]。

另一个有发展前途的免疫结合物是 CMA-676，它是一种抗 CD33 单克隆抗体和卡奇霉素的结合物，卡奇霉素在动物模型中显示比阿霉素的药效强 1000 倍。在一项 39 名急性白血病患者的Ⅱ期临床试验中，2 名患者完全康复，另外 7 名患者显示出白血病细胞暂时性从血液中清除。现在 CMA-676 在北美和欧洲的许多研究中心进行重要的临床研究[36]。

在已扩散患者的初期临床研究中，苯丁酸氮芥-抗恶性黑色素瘤球蛋白结合物也能提高患者的存活率[50]。在对后期转移癌症患者（可能表达 CEA）的评估中发现，乙酰长春酰胺-抗 CEA 抗体结合物能主动定位到癌细胞中[51]。在该研究中，8 名患者接受了剂量逐步增大的抗体（1～

42mg）-乙酰长春酰胺（24～1800μg）治疗，没有发现毒性或过敏反应[51]。但是在大多数病例中，抗体在肿瘤和正常组织中的分布比为 2∶1，很难达到所期望的比，如10∶1[52]。

一些研究已证明，药物—抗体结合物在抗肿瘤反应上的协同作用。例如，一项对支气管癌患者的临床研究，比较了化疗法和免疫化疗法。在原发肿瘤切除后使用抗体治疗前接受化学疗法的小组，癌症的复发率为25%，死亡率为16%；而只接受化疗法小组的复发率为60%，死亡率为41%[53]。

双特异单克隆抗体含有抗-CD3和抗-CD2，通过化学的方法连接到抗肿瘤抗体上，然后包裹到淋巴因子激活杀手（lymphokine-activated killer，LAK）细胞上。经临床证实，在治疗恶性神经胶质瘤、淋巴瘤和卵巢癌上很有发展前景。在一项恶性神经胶质瘤的临床试验中，双特异单克隆抗体包裹的LAK细胞在肿瘤手术切除以及脑放疗和（或）化疗后注射到脑内，两年以后76%的患者体内不再有肿瘤细胞，相反的LAK细胞单独治疗的患者只有33%不再有肿瘤细胞。

为了能够获得更高的药物-抗体比，人们尝试了各种水溶性聚合物载体在免疫结合物中作为连接剂。例如，在带有AH66肝癌细胞的大鼠体内，利用右旋糖酐桥把柔毛霉素连接到单克隆抗体上，已经取得成功[55]。同样的，MMC通过人血清白蛋白载体以摩尔比30∶1∶1连接到抗α胎蛋白单克隆抗体上。抗体活性得以完全保留，而且在体外结合物的细胞毒性是游离MMC的20倍，并且对带有肿瘤的小鼠也比游离MMC更有效[56]。聚赖氨酸也成功地用作载体，如胞壁酰基二肽[57]和甲氨蝶呤[58]的靶向。*N*-羟基丙基-甲丙烯酰胺共聚物作为癌症靶向药物输送的载体也被深入地研究过[59,60]。将能被酶断裂的隔离基（如寡肽）整合到这些结合物中，从而使活性化疗药能释放出来[59,61]。

4. 免疫脂质体

通常肿瘤细胞表达的抗原是非特异性的，只是比在正常细胞中的比例更高。因而利用这些机会开发像免疫脂质体这样的系统，因为它们有望很大程度地和高抗原密度肿瘤细胞结合，而不是和低抗原密度的正常细胞结合。在免疫脂质体中，每一个脂质体中抗体分子数差异达到两个数量级[62]。用卵磷脂、胆固醇、磷脂酰丝氨酸和*N*-4-硝基苯并-2-噁-1-1，3-二唑磷脂酰乙醇胺以56∶33∶10∶1的摩尔比组成脂质体，每一个载体中单层脂质体带有12～55个抗体分子，一项研究调查了它们和具有变化的抗原密度的RDM-4淋巴细胞的结合情况。脂质体化合价的增高（即每个脂质体带有的抗体分子数）促进了它们和低抗原密度细胞的结合区别于高抗原密度细胞，因而低化合价免疫脂质体能更好地分辨靶向和正常细胞[62]。免疫脂质体的另外一个优势在于容易实现较高的载药，因而连接在免疫脂质体表面的少量的抗体分子就能够输送更多的药物分子到靶点。一旦药物释放到靶细胞就不再需要进一步的转换，因为这个包含过程不涉及任何对药物的化学修饰。

Heath等提出利用免疫脂质体作为不能进入到疾病细胞内的化合物的细胞内输送载体。这些化合物如果被输送到细胞内部则具有细胞毒性。甲氨蝶呤-γ-天门冬氨酸是这种类型化合物的一个很好例子，它被包合到含有卵磷脂、胆固醇和4-（对马来酰亚胺-苯基）-丁酰基磷脂酰乙醇胺（摩尔比是10∶10∶1）的脂质体中。这种脂质体又被连接到特异的（抗K2Kk IgG2A）或非特异的（抗绵羊红细胞IgG2A）单克隆抗体中。靶向的脂质体和L929纤维原细胞（表达H2Kk蛋白）的结合比非靶向的脂质体高6倍，但是它们的结合在非特异性BALB/c 3T6细胞株中没有很大的差异。利用L929纤维原细胞的生长抑制实验证明，游离药物、靶向的免疫脂质体和非靶向的免疫脂质体的IC_{50}分别是0.68μmol/L、0.066μmol/L和1.2μmol/L（图4）。因而靶向免疫脂质体比游离药物的有效性高10倍，比非靶向脂质体的有效性高18倍，相反，靶向脂质体在非特异性BALB/c 3T6纤维原细胞中的有效性最低[63]。

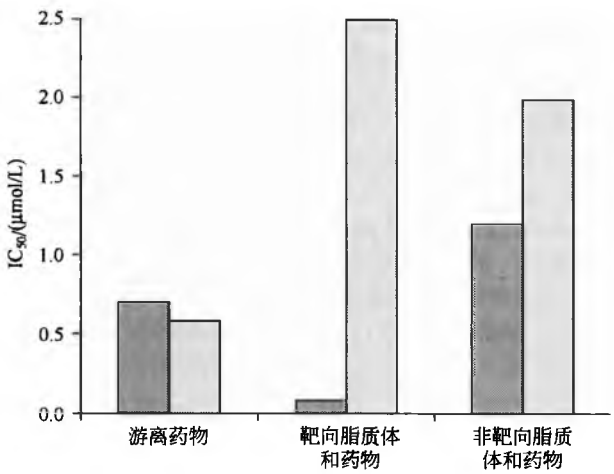


图4 不同治疗类对特异性细胞株L929表达H2Kk蛋白（▨）和非特异性细胞株BALB/c3T6（▩）的体外生长抑制作用。靶向和非靶向的脂质体分别与抗H2Kk IgG2A和抗绵羊红细胞IgG2A结合[63]

人们进行更深入的工作来评估免疫脂质体在HIV感染患者中把靶向药物输送到CD4细胞中的可行性。HIV感染细胞带有CD4，能被连接有抗Leu3A（CD4）的单克隆抗体靶向，这种抗体被连接到载有药物的脂质体表面。初步研究显示，带有表面连接抗Leu3A的免疫脂质体，可以被用来将抗病毒药物靶向至HIV感染的细胞[64]。细胞黏附分子是在病理炎症（如类风湿性关节炎、遗传性过敏性皮炎和哮喘）状态下，在细胞表面表达的糖蛋白，因而也给靶向提供了机会。一种抗细胞黏附分子ICAM-1的F10.2抗体被结合到脂质体，这种免疫脂质体以一种特异的剂量和时间相关的模式（与ICAM-1的表达程度有关）结合到人支气管上皮细胞中。因而这种类型的免疫脂质体具有在炎

症状态下靶向输送药物的能力[65]。

有人也评估了热敏感免疫脂质体在药物输送上的可行性[66]。这些脂质体在高于脂质的相转变温度时能够释放出包裹的药物。包裹^3H-尿嘧啶的双棕榈酰磷脂酰胆碱脂质体的体外细胞培养研究证实，药物的胞内输送比游离药物和没有连接单克隆抗体的脂质体提高了很多。类似地，选择合适的脂质能够制备 pH 敏感的脂质体。在胶体颗粒中包含靶点细胞特异免疫原部分能够制备 pH 敏感的免疫脂质体。Huang 及其同事利用摩尔比 8∶2 的双油酸磷脂酰乙醇胺和油酸制备了 pH 敏感的脂质体[67]。阿拉伯糖苷呋喃糖糖苷胞核嘧啶（ara-C）和甲氨蝶呤被包裹到脂质体中，该脂质体因为带有特异的单克隆抗体而具有抗 L929 细胞的免疫特异性。相比于游离药物、药物包裹到无抗体脂质体和 pH 不敏感免疫脂质体中，包裹在 pH 敏感的免疫脂质体中的药物的细胞毒性有很大的增长。用过量的游离单克隆抗体或空白免疫脂质体来预处理靶点细胞，发现载有药物 pH 敏感免疫脂质体的细胞毒性被阻止。另外，研究显示药物是从发生在细胞内含体中的这些特异载体颗粒中释放出来的[67]。

由于靶向药物输送系统分布、吸收和药理作用的复杂性，体外的结果并不能很好地预测一种单克隆抗体靶向系统（如免疫脂质体）的有效性。实际上只有很少的几种免疫脂质体的体内的研究中能得到和体外研究同样的结果。Onuma 等的研究就是一个例子，他们比较了载有阿霉素的免疫脂质体和游离药物在牛体内的有效性。抗牛血清白血病细胞表达抗原的单克隆抗体 c143 被结合到载有阿霉素的脂质体中。带有抗原的两组牛每隔 4 天接受共 4 次剂量为 0.4mg/kg 的游离药物或同等量的免疫脂质体药物的皮下注射。两头接受游离药物注射的牛的抗原阳性细胞只有轻微的降低，而三头接受免疫脂质体药物的牛的抗原阳性细胞逐步减少至零。其中 2 只动物分别在治疗 6 周和 14 周后表现为抗原阴性[68]。在另外一项研究中，牛白血病细胞表达的肿瘤相关抗原的单克隆抗体被结合到载有阿霉素的脂质体中，在 BLAB/c 裸鼠接种 BLSC-KU 细胞后的当天、第三和第七天静脉注射这种制剂。研究结果和未治疗动物以及接受结合正常小鼠 IgG 的阿霉素脂质体治疗的动物进行了比较，带有靶点抗原特异抗体的阿霉素脂质体能很明显抑制肿瘤生长。利用这种疗法 10 天后肿瘤体积只增长 27%，而在接受非特异性治疗和不接受任何治疗的动物中，肿瘤体积的分别增长 166%和 750%（图 5）[69]。肿瘤的组织学筛选证实在接受特异抗体阿霉素脂质体治疗的动物中，巨噬细胞的繁殖显著地增长，但是在未治疗的动物中，肿瘤细胞的繁殖几乎没有巨噬细胞参与[69]。

近几年一种称为长循环脂质体（也叫空间稳定或“隐形”脂质体）引起人们很大的兴趣，即将聚乙二醇（PEG）分子共价连接到脂质体的磷脂层（特别是磷脂酰乙醇胺）表面。这种长循环脂质体能够避免被网状内皮系统（RES）的快速摄取，体内的循环半衰期能提高一个数量级[70,71]。实际上，在传统免疫脂质体表面存在的单克隆抗体能增加

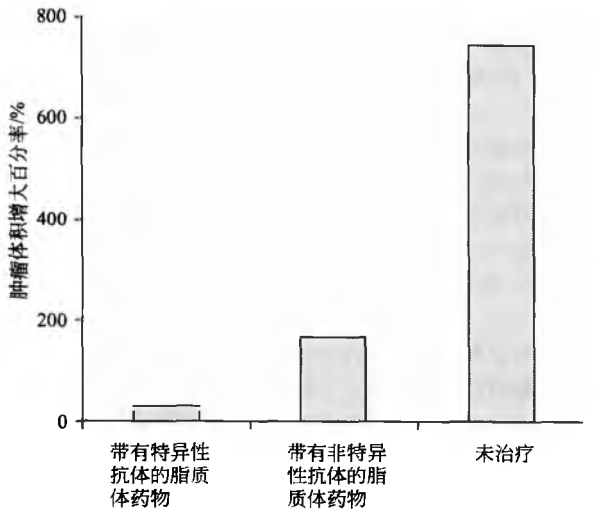


图 5 不同治疗方案对接种 BLSC-KU 细胞的小鼠肿瘤体积增大的影响。治疗组动物在治疗开始的第 0、3 和 7 天静注肿瘤特异性或非特异性阿霉素脂质体；肿瘤特异性或非特异性脂质体分别结合了抗白血病细胞和正常小鼠 IgG 的单克隆抗体[69]

被 RES 系统的摄取，因而对于免疫脂质体进行一定修饰以确保长循环是非常重要的。当设计一种 PEG 修饰免疫脂质体时，其组成必须就抗原结合和循环时间延长进行优化。脂质体抗体对抗原位点的识别有可能因为 PEG 的存在而形成空间位阻，可以把聚合物的相对分子质量降到 2000 或者把抗体从脂质体的表面移到 PEG 末端来解决这个问题[72]。

虽然在体外和体内对免疫脂质体进行了深入的研究，但是这种单克隆抗体靶向系统仍然还没能进入到临床试验中。原因是多方面的，包括在合适的动物模型中证实它的有效性很困难，以及空间稳定单克隆靶向脂质体的规模扩大和大量生产中存在障碍。另有潜在问题包括免疫脂质体可能不能够完全渗透实体肿瘤的血管系统，可能不能完全把载有的药物释放到靶点细胞中，以及可能具有免疫原性[73]。利用人源化抗体能在一定程度上减轻免疫原性的影响。最近，连接到人源化抗-HER2（与 Herceptin 类似）单克隆抗体 Fab′片段的空间稳定脂质体在体外通过共聚焦显微技术进行研究。这种免疫脂质体有选择地和 HER2 大量表达的乳腺癌细胞结合后进入到细胞中，达到每个细胞 8000～23 000个载体的饱和脂质体浓度，是低 HER2 表达细胞的 100 倍[74]。这些免疫脂质体含有阿霉素以及最佳的细胞内肿瘤药物输送的 Fab′/脂质/PEG 组成，在人异体移植乳腺癌的活体模型中，其抗肿瘤有效性比游离阿霉素和非靶向阿霉素脂质体有很大的提高，而全身毒性比游离阿霉素更低[75]。这个研究也证明了输送系统优化的重要性，例如，和靶点抗原决定基的结合、被靶细胞吸收和有效药物在靶点的释放。在临床上成功证实免疫脂质体的效果前这些因素要加以考虑。一种理想的免疫脂质体能有效地包裹化合物，以保护它在被内皮细胞转运前或转运中不被降

解，因而把内在毒性降到最低，也能控制药物在靶点组织的血管外释放。这方面应该注意特定载体的输送系统可引起肿瘤细胞耐药的逆转（图 6）[76]。然而免疫脂质体还不能满足上述理想标准，因而在临床上应用之前仍有许多工作要做。

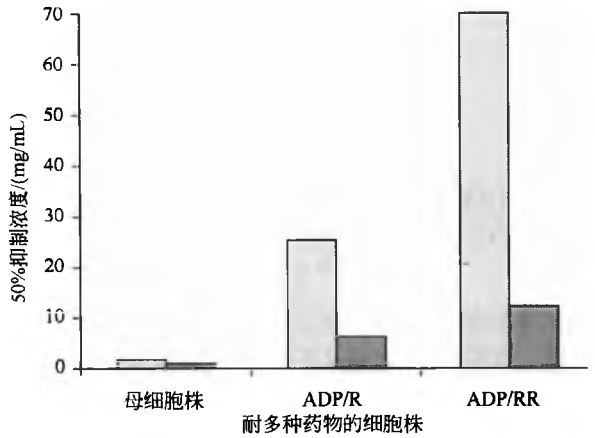


图 6 体外正常和耐药株的 50%抑制药物浓度。长春碱溶液（▓）或长春碱脂质体（▒）治疗，数据表明通过脂质体等载体系统耐药性可以逆转[76]

亲脂性药物的一种相关给药方式是单克隆抗体靶向乳剂。例如，一种肺靶向的单克隆抗体 34A 被结合到含有蓖麻油、卵磷脂、PEG 化的磷脂酰乙醇胺的长循环乳剂的表面。静脉注射到小鼠体内，30min 以后 30%的注射乳剂剂量能优先和肺组织结合[77]。类似地，连接抗-B 细胞淋巴瘤 LL2 单克隆抗体的长循环乳剂，在体外能和三种不同的 Burkitt's 淋巴瘤细胞株结合，显示出输送抗癌药物到 B 细胞恶性肿瘤的潜力[78]。

5. 免疫微球

具有生物相容性和能生物降解的聚合物多种多样，具有可预见的理化特性且稳定的微粒的制备方法较简单，将抗体结合到这些聚合物微粒上，以控制其在体内的分布。

虽然一些体外的研究已经证实了使用免疫微球能得到很有前途的结果[79,80]，但是有关它在体内药物输送有效性的报道却很有限。其中一个例子，在较成功的体外试验后，进行了荷有人肿瘤异体移植的小鼠的体内实验，^{14}C-聚己基氰基丙烯酸酯纳米粒吸附了抗成骨肉瘤单克隆抗体 971T/36，给小鼠用药。发现这些颗粒主要分布在肝和脾脏中，因而这个实验并不能证明免疫载体输送药物的任何改进[81]。可能的原因有以下几个：颗粒大小不合适、癌组织的可渗透性、颗粒表面缺乏足够的 Fab 表达、微粒调理作用导致二次非交互性包裹、特异性抗原在肝脏中的分布以及吸附的单克隆抗体被血清成分竞争性地置换掉。另外一个研究评估了在小鼠体内白蛋白免疫微球在药物输送上的潜力[80]。结果表明在投药 24h 以后，这种带有 Lewis 恶性肺肿瘤单克隆抗体的微球在肿瘤处的定位能稍微提高一些。

法规上要考虑的问题

管理当局对于一种新产品最关心的仍然是安全性和有效性，基于单克隆抗体的治疗剂在制造过程中的一些技术问题不能被忽视。其实因为抗体系统含有特异的免疫反应，而且它们包含有生物来源的一些成分，因而很明显对于临床这些产品的管理指南应该是非常严格的。开发抗体和基于抗体的输送系统的技术相对较新，在最近的几年也会不断地得到扩展。在未来的几年里可以期待制造过程会有更多的变化。尽管大部分产品的处理方式各不相同，以下是可用于所有抗体系统的一个通用指南：细胞株起源的彻底定性、生产过程的定性、产物的纯化和定性、质量监控和生产以及试验过程的验证。例如，一种单克隆产品的成功批准和使用将要求公布亲本骨髓瘤细胞株的起源、名字和特性以及所有的用于杂交的动物种的有关细节。还要说明选择一种特定细胞株的理由和接受的准则，用于体内生产的动物基因类型以及管理，另外污染物的监控也起着非常关键的作用。一旦一个产品被制造出来，需要大规模的纯化来降低污染的程度（利用亲和、体积排阻或者离子交换色谱及超速离心技术）从而增加产品获得批准的可行性。另外需要采取措施确保产品不含有从原始的恶性杂交瘤细胞株而来的生物污染。

一旦有了一批产品，需要定性免疫球蛋白和亚免疫球蛋白，并且测试免疫球蛋白在聚集、变性和片段化方面的潜力，以及免疫特异性。如果采用一种单克隆抗体片段，则需要鉴定这种片段同源化的程度。最后，该批药品在无菌和多聚核苷酸污染方面的信息也是必需的。可期望工序验证能抵制成批的病毒和核酸的污染。另外，产品在有关片段化、聚集和药效丧失等稳定性的测试也是必需的。最终产品在至少一种带有相关抗原的物种中的临床前毒性测试也是必需的。另外，在确定合适的动物模型后，需要进行包括体内分布、代谢和排泄的 GLP 药代动力学的评估。

如前所述，在大多数情况下，抗原主要是和靶点连接而不是特异性的存在，例如，少量同种抗原存在于一种或多种非靶点器官。因为这种交叉反应的可能性很高，法规指南提议筛选交叉反应。在体外筛选中，红细胞、细胞培养株、荧光抗体测试、放射自显影技术以及其他类似的技术是可用的。如果可能，从无关联器官捐献者而来的组织也可以用来筛选有可能的交叉反应组织抗原的表型表达。如果这些测试证明存在交叉反应，就需要进一步在具有类似现象的动物体内来测试它的频率和强度。或者采用离体灌流的人器官系统。如果这些方法不可行，有可能建议进行有限的临床测试，重点在于给药一段时间内产品的定量生物分布。

应该意识到以上的指南主要是用于一般的估计和管理所有产物的抗体或抗体成分，根据最终产物的特性还需要一些扩展或改进。例如，在抗体药物输送系统中，药物和

抗体对最终系统的药效和生理活性的影响需要评估。

Y

结论

1. 问题和可能的解决方法

虽然单克隆抗体药物输送系统取得了很大的进展，但在该技术在治疗上发挥重要影响以前仍然有许多问题需要解决。单克隆抗体在体内时并不常像在体外研究时那样显示出很强的特异性，例如，肿瘤抗体既可以和靶细胞也可与正常细胞结合。虽然事实已证实抗原和肿瘤组织结合，但是在定量的药物靶向中抗原并不具备足够的特异性。例如，已证实 CA19-9、BW494 以及 DU-PAN-2 是和胰腺癌有关的抗原，但是并不鼓励使用胰腺肿瘤单克隆抗体疗法[82]。在一些病例中，肿瘤组织中单克隆抗体药物的最高浓度只比周围正常组织中的浓度高出 2～3 倍。目前的文献提出在能够识别特异抗原而不和正常组织发生交叉反应的高亲和单克隆抗体仍然很少。一个仅有的例外是特定的 B 细胞淋巴瘤表达的表面免疫球蛋白[84]。

引起肿瘤细胞靶向抗原低密度的另外一个原因是在肿瘤细胞表面抗原遗传的不稳定性。抗原性的调节有可能引发非肿瘤特异性的抗原抗体反应，因而引起给药系统预期药效的逆转。单壳隆抗体与抗原结合易被低抗原密度所饱和。在剂量＜100μg 时定量评价单克隆抗体在肿瘤组织中的定位，结果发现肿瘤大小和抗体定位的量存在正相关，并且在给药 2～3 天以后只有 8%能在肿瘤中检测到。但是大剂量给药时显示单克隆抗体在肿瘤中的分配比例被降低，1～2mg 几乎饱和了肿瘤组织[83]。循环系统中肿瘤相关抗原的存在是单克隆抗体输送系统效率降低的另外一个因素，并使评估变得更加复杂。例如，循环系统中存在的胚胎肿瘤抗原使单克隆抗体在治疗上的应用变得更为复杂[85]。因为这些问题的存在，单克隆抗体输送系统的应用被限制在少数在靶点的所有细胞中具有相对高密度的已知抗原的病例中。

肿瘤细胞的异源性是靶向上存在的另外一个问题，也就是，一种特异的抗原也许在靶组织的所有细胞中存在的量并不足以选择合适的抗体。例如，在一个特定的宿主或同一个器官中，多种转移性肿瘤细胞的繁殖能够引起各种恶性肿瘤，它们含有异源的具有不同生理特性的各种细胞群，如生长率、抗原性或者免疫原性、细胞表面受体、对单个和组合化疗和免疫治疗剂的应答、侵入性、转移潜力[86]。Trubetskoy 等提出将带有各种异源抗原的单克隆抗体药物输送到靶点区域的方法。这种方法要求顺序地服用一种抗各种抗原的修饰过的抗体混合物，然后投入能够识别并且能和累积抗体反应的药物载体（图 7）[87]。利用生物素化抗体以及带有生物素化和抗生物素蛋白的脂质体证明了这种策略在实际应用中的可行性。研究发现抗生物素蛋白和生物素化的脂质体的结合比和只带有单个抗体脂质体的结合更高[87]。

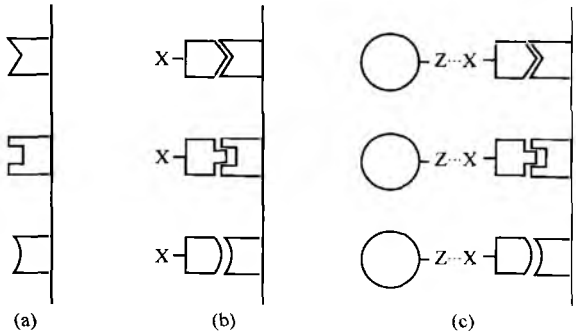


图 7 图示输送系统的统一以优化单克隆抗体的治疗效果[87]。(a) 暴露的靶基因；(b) 桥分子的初始治疗；(c) 统一的载体系统的特异结合

实体肿瘤因为普遍缺乏脉管系统，因而存在一些特殊的问题：通常单克隆抗体及其片段、药物或毒素-结合物不能够很好地渗透到实体肿瘤组织中。因为实体肿瘤具有相对完整的微脉管屏障，因而载体的溢出具有一定的困难，免疫脂质体被实体肿瘤累积和吸收的比率也是很低的[88]。另外，自然存在的脉管渗透性的增加有利于应用单克隆抗体药物结合物来治疗一般的淋巴瘤和白血病。

单克隆抗体能被网状内皮系统（RES）摄取是这个系统的另外一个缺点。曾经有人提出只有 0.1%～1%的抗体药物能到达非 RES 部位，在最佳环境下有 8%能够到达非 RES 位点[89]。但是一项研究比较了抗 CEA 单克隆抗体和 F（ab′）2 和 Fab′片段在移植了人结肠癌裸鼠体内的定位，结果证明 F（ab′）2 和 Fab′片段在肿瘤内的吸收远远高于完整的单克隆抗体[90]，因为它们的分子小于后者。另外研究发现，通常数周的多次静脉注射比单次注射更为有效[91]，并且连续滴注比注射更为有效[43]。

“外部”单克隆抗体的免疫原性是造成利用这种系统治疗失败的一个主要因素。曾经有人提议利用 F（ab′）2 片段能够提高药物的输送而不会降低抗原抗体结合的特异性，因为去掉 Fc 部分有可能降低免疫原性以及和正常细胞的非特异结合[92]。人源化抗体在降低单克隆系统免疫反应上具有很大的发展前途。在免疫疗法得到很大发展的同时，有关人源化免疫结合物方面的报道却并不多见，仍然是因为免疫结合物非抗体部分的免疫原性。例如，注射非结合鼠单克隆抗体的大鼠不能够产生抗体反应，但是注射单克隆抗体-长春花生物碱结合物的大鼠却产生了很强的抗结合物部分的抗体反应[93]。

2. 前景展望

当和其他形式的靶向或者最优化方法相结合时，抗体药物输送领域能够开发出新的应用。例如，在光动力学治疗中光敏感药物（如卟啉、氯、红霉素或苯二甲蓝染料）被定位在肿瘤上，通过照射来杀死细胞[94]。有几例报道已经描述到利用单克隆抗体来增加它的定位。例如，Sn（Ⅳ）氯 e6 通过右旋糖酐载体被连接到抗黑素瘤单克隆抗体的寡

糖部分。体外研究显示只对展示靶点抗原的细胞显示出特异的光毒性[95]。类似地，一种氯衍生物，内消旋二氢卟酚 e_6 单(*N*-2-氨基乙酰胺）通过四肽连接到抗卵巢癌细胞抗体中。这种结合物很快地被细胞吸收并且在溶酶体中检测到，并且这种结合物比非靶向的结合物对恶性卵巢细胞的光动力学作用更高（MoAb-HPMA-e6、HPMA-e6 和游离 e6 的 IC_{50} 分别为 0.38μmol/L、290μmol/L 和 0.34μmol/L)[96]。

另外一种技术把单克隆抗体靶向和酶的前体药物激活系统结合了起来。这种治疗方法叫抗体介导前体药物疗法(ADEPT)，是把一种酶抗体结合物注入体内并在靶点部位累积。一种潜在的非毒性的带有酶的前体药物被注射到体内，与酶接触后转变成活性药物而杀死肿瘤细胞[97]。例如，一种芥菜苯甲酸的谷氨酸衍生物被注入带有绒毛膜恶性肿瘤的小鼠体内，然后注入能把谷氨酸水解出来的羟基肽酶-抗体结合物。肿瘤部位含有最高浓度的靶向酶结合物，是将所到达该部位的前药活化的唯一部位[98]。ADEPT 技术已经在临床结肠直肠癌患者中得到试验，采用对 *N*-(单-2-氯乙基单甲磺酰基）-氨基苯甲酰谷氨基作为药物前体，抗体结合的谷氨酸水解酶作为激活酶，5 例患者中有 2 例从疾病中得到暂时恢复[99]。

虽然单克隆抗体技术在以前的章节中描述了存在这样那样的问题，这种技术在未来药物输送和治疗上仍然占据很重要的位置。尽管采用这种技术的治疗应用不多，但问题并不是难以解决的，并会有与其他疗法相比更重要的优势。在抗体、偶合方法、药物、给药途径、剂量和其他因素的选择上必须投入更多的考虑，才能设计一种对于特定疾病有效的治疗方法。要熟悉和理解特定单克隆抗体在体内的分布、吸收、代谢以及药理作用的机制，从而开发一种合理的特定单克隆抗体疗法。人源化抗体在减轻鼠源性抗体引起的免疫反应中具有很大的发展前途。单克隆抗体生产规模扩大存在的问题已经被解决，主要是因为单克隆抗体在诊断应用上的飞快发展和将要到来的单克隆抗体治疗市场。在免疫结合物和复杂的免疫脂质体以及免疫微球的规模扩大生产上仍然有许多工作要做。不管如何，在下个 10 年我们也许会看到许多单克隆抗体疗法不仅能够进入大范围的临床试验也许还会有产品上市。

参考文献

1. Ram, B. P.; Tyle, P. Immunoconjugates: Applications in Targeted Drug Delivery for Cancer Therapy. Pharm. Res. 1987, 4, 181—188.
2. Bodey, B.; Siegel, S. E.; Kaiser, H. E. Human Cancer Detection and Immunotherapy with Conjugated and Non-Conjugated Monoclonal Antibodies. Anticancer Res. 1996, 16, 661—674.
3. Panchagula, R.; Dey, C. S. Monoclonal Antibodies in Drug Targeting. J. Clin. Pharm. Ther. 1997, 22, 7—19.
4. Buske, C.; Feuring-Buske, M.; Unterhalt, M.; Hiddermann, W. Monoclonal Antibody Therapy for B-Cell Non-Hodgkins's Lymphomas. Eur. J. Cancer 1999, 35, 549—557.
5. Multani, P. S.; Grossbard, M. L. Monoclonal Antibody-Based Therapies for Hematologic Malignancies. J. Clin. Oncol. 1998, 16, 3691—3710.
6. Devlin, T. M. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations; John Wiley & Sons: New York, 1982; 110.
7. Delmonico, F. L.; Cosimi, A. B. Monoclonal Antibody Treatment of Human Allograft Recipients. Surg. Gynecol. Obstet. 1988, 166, 89—98.
8. Myers, K. J.; Ron, Y. Current Approaches and Obstacles to Immunotherapy. Pharm. Technol. 1992, 16, 26—36.
9. Larson, S. M.; Carrasquillo, J. A.; Krohn, K. A.; Brown, J. P.; McGuffin, R. W.; Ferens, J. M.; Hill, L. D.; Beaumier, P. L.; Hellstrom, P. L.; Hellstrom, I. Localization of 13_{11}-Labeled P97-Specific Fab Fragments in Human Melanoma as a Basis for Radiotherapy. J. Clin. Invest. 1983, 72, 2101—2107.
10. Ball, E. D.; Guyre, P. M.; Mills, L.; Fisher, J.; Dinces, N. B.; Fanger, M. W. Initial Trial of Bispecific Antibody-Mediated Immunotherapy of CD15-Bearing Tumors: Cytotoxicity of Human Tumor Cells Using a Bispecific Antibody Comprised of Anti-CD15 (MoAb PM81) and Anti-CD64/Fc Gamma RI (MoAb 32). J. Hematother. 1992, 1, 85—94.
11. Goding, J. W. Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 3rd Ed.; Academic Press: London, 1996; 153—160.
12. Kettleborough, C. A.; Saldanha, J.; Heath, V. J.; Morrison, C. J.; Bendig, M. M. Humanization of a Mouse Monoclonal Antibody by CDR Grafting. Protein Eng. 1991, 4, 773—783.
13. Randerson, D. H. Large-Scale Cultivation of Hybridoma Cells. J. Biotechnol. 1985, 2, 241—255.
14. Shepherd, P.; Dean, C. Monoclonal Antibodies: A Practical Approach; Oxford University Press: Oxford, 2000; 125—180.
15. King, D. J. Applications and Engineering of Monoclonal Antibodies; Taylor and Francis: London, 1998; 161—185.
16. Page, M.; Thibeault, D.; Noel, C.; Dumas, L. Coupling a Preactivated Daunorubicin Derivative to Antibody: A New Approach. Anticancer Res. 1990, 10, 353—357.
17. Arano, Y.; Matsushima, H.; Tagawa, M.; Koizumi, M.; Endo, K.; Konishi, J.; Yokoyama, A. A Novel Bifunctional Metabolizable Linker for the Conjugation of

Y

Antibodies with Radionuclides. Bioconjugate Chem. 1991, 2, 71—76.

18. Noguchi, A.; Takahashi, T.; Yamaguchi, T.; Kitamura, K.; Takakura, Y.; Hashida, M.; Sezaki, H. Preparation and Properties of the Immunoconjugate Composed of Anti-Human Colon Cancer Monoclonal Antibody and Mitomycin C-Dextran Conjugate. Bioconjugate Chem. 1992, 3, 132—137.
19. Zara, J. J.; Wood, R. D.; Boon, P.; Kim, C.-H.; Pomato, N.; Bredehorst, R.; Vogel, C.-W. A Carbohydrate-Directed Heterobifunctional Cross-Linking Reagent for the Synthesis of Immunoconjugates. Anal. Biochem. 1991, 194, 156—162.
20. Kaneko, T.; Willner, D.; Monkovic, I.; Knipe, J. O.; Braslawsky, G. R.; Greenfield, R. S.; Vyas, D. M. New Hydrazone Derivatives of Adriamycin and their Immunoconjugates— A Correlation Between Acid Stability and Cytotoxicity. Bioconjugate Chem. 1991, 2, 133—141.
21. Lavie, E.; Hirschberg, D. L.; Schreiber, G.; Thor, K.; Hill, L.; Hellstrom, I.; Hellstrom, K.-E. Monoclonal Antibody L6-Daunomycin Conjugates Constructed to Release Free Drug at the Lower pH of Tumor Tissue. Cancer Immunol. Immunother. 1991, 33, 223—230.
22. Greenfield, L.; Bloch, W.; Moreland, M. Thiol Containing Cross-Linking Agent with Enhanced Steric Hindrance. Bioconjugate Chem. 1990, 1, 400—410.
23. Goff, D. A.; Carroll, S. F. Substituted 2-Iminothiolanes: Reagents for the Preparation of Disulfide Cross-Linked Conjugates with Increased Stability. Bioconjugate Chem. 1990, 1, 381—386.
24. Rowland, G. F.; O'Neill, G. J.; Davies, A. A. Suppression of Tumour Growth in Mice by a Drug-Antibody Conjugate Using a Novel Approach Linkage. Nature 1975, 255 (5508), 487—488.
25. Rybak, S. M.; Hoogenboom, H. R.; Meade, H. M.; Raus, J. C. M.; Schwartz, D.; Youle, R. J. Humanization of Immunotoxins. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1992, 89, 3165—3169.
26. Vandamme, A.; Dewerchin, M.; Lijnen, R.; Bernar, H.; Bulens, F.; Nelles, L.; Collen, D. Characterization of a Recombinant Chimeric Plasminogen Activator Composed of a Fibrin Fragment-D-Dimer-Specific Humanized Monoclonal Antibody and a Truncatred Single-Chain Urokinase. Eur. J. Biochem. 1992, 205, 139—146.
27. Weiner, L. M. An Overview of Monoclonal Antibody Therapy of Cancer. Semin. Oncol. 1999, 26 (4 Suppl. 12), 41—50.
28. Taetle, R.; Honeysett, J. M.; Trowbridge, I. Effects of Anti-Transferrin Receptor Antibodies on Growth of Normal and Malignant Myeloid Cells. Int. J. Cancer 1983, 32, 343—349.
29. Physician's Desk Reference, 53rd Ed.; Rituxan, Medical Economics Co.: Montvale, NJ, 1999; 1070 — 1072 — 1384—1386.
30. Cobleigh, M. A.; Vogel, C. L.; Tripathy, D.; Robert, N. J.; Scholl, S.; Fehrenbacher, L.; Wolter, J. M.; Paton, V.; Shak, S.; Lieberman, G.; Slamon, D. J. Multinational Study of the Efficacy and Safety of Humanized Anti-HER2 Monoclonal Antibody in Women Who Have HER2-Over-Expressing Metastatic Breast Cancer That has Progressed after Chemotherapy for Metastatic Disease. J. Clin. Oncol. 1999, 17, 2639—2648.
31. Colbern, G. T.; Hiller, A. J.; Musterer, R. S.; Working, P. K.; Henderson, I. C. Antitumor Activity of Herceptin in Combination with Stealth Liposomal Cisplatin or Nonliposomal Cisplatin in a HER2 Positive Human Breast Cancer Model. J. Inorg. Biochem. 1999, 77, 117—120.
32. Mittelman, A.; Chen, Z. J.; Kageshita, T.; Yang, H.; Yamada, M.; Baskind, P.; Goldbexy, N.; Puccio, C.; Ahmed, T.; Arlin, Z. et al. Active Specific Immunotherapy in Patients with Melanoma. J. Clin. Invest. 1990, 86, 2136—2144.
33. Magerstadt, M. Antibody Conjugates and Malignant Disease; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991; 17—36, 79—110.
34. Preparation and Use of DTPA-Coupled Antitumor Antibodies Radiolabelled with Yttrium-90. In Antibody-Mediated Delivery Sytems; Hnatowich, D. J., Snook, D., Rowlinson, G., Stewart, S., Epentos, A. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; 353—374.
35. Corcoran, M. C.; Eary, J.; Bernstein, I.; Press, O. W. Radioimmunotherapy Strategies for Non-Hodgkin's Lymphomas. An. Oncol. 1997, 8 (Suppl. 1), 133—138.
36. Panousis, C.; Pietersz, G. A. Monoclonal Antibody-Directed Cytotoxic Therapy: Potential in Malignant Diseases of Aging. Drugs & Aging. 1999, 1, 1—15.
37. Press, O. W.; Eary, J. F.; Appelbaum, F. R.; Martin, P. J.; Badger, C. C.; Nelp, W. B.; Glenn, S.; Butchko, G.; Fisher, D.; Porter, B. Radiolabeled-Antibody Therapy of B-Cell Lymphoma with Autologous Bone Marrow Support. New Engl. J. Med. 1993, 329, 1219—1224.
38. Press, O. W. Radiolabeled Antibody Therapy of B-Cell Lymphomas. Semina. Oncol. 1999, 26 (5 Suppl 14), 58—65.
39. Poste, G.; Kirsh, R. Site-Specific (Targeted) Drug Delivery in Cancer Therapy. Biotechnology 1983, 1, 869—878.

40. Alving, C. R. Delivery of Liposome-Encapsulated Drugs to Macrophages. Pharm. Ther. 1983, 22, 407—412.
41. Panchal, R. G. Novel Therapeutic Strategies to Selectively Kill Cancer Cells. Biochem. Pharmacol. 1998, 55, 247—252.
42. Vitetta, E. S.; Stone, M.; Amlot, P.; Fay, J.; May, R.; Till, M.; Newman, J.; Clark, P.; Collins, R.; Cunningham, D. et al. A Phase I Immunotoxin Trial in Patients with B-Cell Lymphoma. Cancer Res. 1991, 15, 4052—4058.
43. Winkler, U.; Barth, S.; Schnell, R.; Diehl, V.; Engert, A. The Emerging Role of Immunotoxins in Leukemia and Lymphoma. Ann. Oncol. 1997, 8 (Suppl 1), 139—146.
44. Kreitman, R. J.; Pastan, I. Immunotoxins for Targeted Cancer Therapy. Adv. Drug Del. Rev. 1998, 31, 53—88.
45. Willner, D.; Trail, P. A.; Hofstead, S. J.; King, H. D.; Lasch, S. J.; Braslawsky, G. R.; Greenfield, R. S.; Kaneko, T.; Firestone, R. A. (6-Maleimidocaproyl) Hydrazone of Doxorubicin — A New Derivative for the Preparation of Immunoconjugates of Doxorubicin. Bioconjugate Chem. 1993, 4, 521—42.
46. Trail, P. A.; Willner, D.; Lasch, S. J.; Henderson, A. J.; Hofstead, S.; Casazza, A. M.; Firestone, R. A.; Hellstrom, I.; Hellstrom, K. E. Cure of Xenografted Human Carcinomas by BR96-Doxorubicin Immunoconjugates. Science 1993, 261 (5118), 212—215.
47. Sjogren, H. O.; Isaksson, M.; Willner, D.; Hellstrom, I.; Hellstrom, K. E.; Trail, P. A. Antitumor Activity of Carcinoma-Reactive BR96-Doxorubicin Conjugate against Human Carcinomas in Athymic Mice and Rats and Syngeneic Rat Carcinomas in Immunocompetent Rats. Cancer Res. 1997, 7, 4530—4536.
48. Barbour, N. P.; Paborji, M.; Alexander, T. C.; Coppola, W. P.; Bogardus, J. B. Stabilization of Chimeric BR96-Doxorubicin Immunoconjugate. Pharm. Res. 1995, 12, 215—222.
49. Tolcher, A. W.; Sugarman, S.; Gelmon, K. A.; Cohen, R.; Saleh, M.; Isaacs, C.; Young, L.; Healey, D.; Onetto, N.; Slichenmyer, W. Randomized Phase II Study of BR96-Doxorubicin Conjugate in Patients with Metastatic Breast Cancer. J. Clin. Oncol. 1999, 17 (2), 478—484.
50. Ghose, T.; Norvell, S. T.; Guclu, A.; Bodurtha, A.; Tai, J.; MacDonald, A. S. Immunochemotherapy of Malignant Melanoma with Chlorambucil-Bound Antimelanoma Globulins: Preliminary Results in Patients with Disseminated Disease. J. Natl. Cancer Inst. 1977, 58, 845—852.
51. Ford, C. H. J.; Newman, C. E.; Johnson, J. R.; Woodhouse, C. S.; Reeder, T. A.; Rowland, G. F.; Simmonds, R. G. Localisation and Toxicity Study of a Vindesine-Anti-CEA Conjugate in Patients with Advanced Cancer. Br. J. Cancer 1983, 47, 35—42.
52. Sezaki, H.; Hashida, M. Macromolecule-Drug Conjugates in Targeted Cancer Chemotherapy. CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Sys. 1984, 1, 1—38.
53. Newman, C. E.; Ford, C. H. J.; Davies, D. A. L.; O'Neill, G. J. Antibody Drug Synergism an Assessment of Specific Passive Immuno Therapy in Bronchial Carcinoma. Lancet 1977, 2, 163—164.
54. Nitta, T.; Sato, K.; Yagita, H.; Okumura, K.; Ishii, S. Preliminary Trial of Specific Targeting Therapy Against Malignant Glioma. Lancet 1990, 335, 368—371.
55. Tsukada, Y.; Hurwitz, E.; Kashi, R.; Sela, M.; Hibi, N.; Hara, A.; Hirai, H. Chemotherapy by Intravenous Administration of Conjugates of Daunomycin with Monoclonal and Conventional Anti-Rat Alpha-Fetoprotein Antibodies: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1982, 79, 7896—7899.
56. Ohkawa, K.; Tsukada, Y.; Hibi, N.; Umemoto, N.; Hara, T. Selective In Vitro and In Vivo Growth Inhibition against Human Yolk Sac Tumor Cell Lines by Purified Antibody against Human Alpha-Fetoprotein Conjugated with Mitomycin C Via Human Serum Albumin. Cancer Immunol. Immunother. 1986, 23, 81—86.
57. Shen, W.-C.; Dug, X.; Feener, E. P.; Ryser, H. J. The Intracellular Release of Methotrexate from a Synthetic Drug Carrier System Targeted to Fc Receptor-Bearing Cells. J. Contr. Rel. 1989, 10, 89—96.
58. Midoux, P.; Martin, A.; Collet, B.; Monsigny, M.; Roche, A.-C.; Toujas, L. Activation of Mouse Macrpphages by Muramyl Dipeptide Coupled with an Anti-Macrophage Monoclonal Antibody. Bioconjugate Chem 1992, 3, 194—199.
59. Seymour, L. W.; Flanagan, P. A.; Al-Shamkhani, A.; Subr, V.; Ulbrich, K.; Cassidy, J.; Duncan, R. Synthetic Polymers Comjugated to Monoclonal Antibodies: Vehicles for Tumor-Targeted Drug Delivery. Sel. Cancer Thera. 1991, 7, 59—73.
60. Rihova, B.; Kopecek, J. Biological Properties of Targetable Poly [N- (2-Hydroxypropyl) -Methacrylamide] -Antibody Conjugates. J. Contr. Rel. 1985, 2, 289—310.
61. Duncan, R.; Hume, I. C.; Kopeckova, P.; Ulbrich, K.; Strohalm, J.; Kopecek, J. Anticancer Agents Coupled To N-(2-Hydroxypropyl)-Methacrymide Copolymers. J.

Y

Y

Contr. Rel. 1989, 10, 51—63.

62. Houck, K. S.; Huang, L. The Role of Multivalency In Antibody Mediated Liposome Targeting. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987, 145, 1205—1210.
63. Heath, T. D.; Montgomery, J. A.; Piper, J. R.; Paphadjopoulos, D. Antibody-Targeted Liposomes: Increase in Specific Toxicity of Methotrexate-Gamma-Aspartate. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1983, 80, 1377—1381.
64. Phillips, N. C.; Tsoukas, C. Immunoliposome Targeting to CD41 Cells in Human Blood. Cancer Detect. Prev. 1990, 14, 383—390.
65. Bloemen, P. G. M. Adhesion Molecules: A New Target for Immunoliposome-Mediated Drug Delivery. FEBS Letters 1995, 357, 140—144.
66. Sullivan, S. M.; Huang, L. Enhanced Delivery to Target Cells by Heat-Sensitive Immunoliposomes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986, 83, 6117—6121.
67. Connor, J.; Huang, L. pH-Sensitive Immunoliposomes as an Efficient and Target-Specific Carrier for Antitumor Drugs. Cancer Res. 1986, 46, 3431—3435.
68. Onuma, M.; Yasutomi, Y.; Yamamoto, M.; Watarai, S.; Yasuda, T.; Kawakami, Y. Antitumor Effect of Adriamycin Entrapped in Liposomes Conjugated with Anti-bovine Tumor Antigen Monoclonal Antibody in Leukemic Cows. Zentralbl. Veterinarmed. 1989, 36, 139—147.
69. Onuma, M.; Odawara, T.; Watarai, S.; Aida, Y.; Ochiai, K.; Syuto, B.; Matsumoto, K.; Yashuda, T.; Fujimoto, Y.; Izawa, H.; Kawakami, Y. Antitumor Effect of Adriamycin Entrapped in Liposomes Conjugated with Monoclonal Antibody against Tumor-Associated Antigen of Bovine Leukemia Cells. Jpn. J. Cancer Res. 1986, 77, 1161—1167.
70. Woodle, M. C. Sterically Stabilized Liposome Therapeutics. Adv. Drug Del. Rev. 1995, 16, 249—265.
71. Allen, T. M. Long-Circulating (Sterically Stabilized) Liposomes for Targeted Drug Delivery. Trends Pharmacol. Sci. 1994, 15, 215—20.
72. Maclean, A. L.; Symonds, G.; Ward, R. Immunoliposomes as Targeted Delivery Vehicles for Cancer Therapeutics. Int. J. Oncol. 1997, 11, 325—332.
73. Mastrobattista, E.; Koning, G. A.; Storm, G. Immunoliposomes for the Targeted Delivery of Antitumor Drugs. Adv. Drug Deliv. Reviews 1999, 40, 103—127.
74. Kirpotin, D.; Park, J. W.; Hong, K.; Zalipsky, S.; Li, W. L.; Carter, P.; Benz, C. C.; Papahadjopoulos, D. Sterically Stabilized Anti-HER2 Immunoliposomes: Design and Targeting to Human Breast Cancer Cells In Vitro. Biochemistry 1997, 36 (1), 66—75.
75. Park, J. W.; Hong, K.; Kirpotin, D. B.; Meyer, O.; Papahadjopoulos, D.; Benz, C. C. Anti-HER2 Immunoliposomes for Targeted Therapy of Human Tumors. Cancer Lett. 1997, 118, 153—160.
76. Seid, C. A.; Fidler, I. J.; Clyne, R. K.; Earnest, L. E.; Fan, D. Overcoming Murine Tumor Cell Resistance to Vinblastine by Presentation of the Drug in Multilamellar Liposomes Consisting of Phosphatidylcholine and Phosphatidylserine. Sel. Cancer Thera. 1991, 7, 103—12.
77. Young, K.; Liu, D.; Maruyama, K.; Takizawa, T. Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions. PDA J. of Pharm. Sci. Technol. 1996, 50, 372—377.
78. Lundberg, B. B.; Griffiths, G.; Hansen, H. J. Conjugation of an Anti-B-Cell Lymphoma Monoclonal Antibody, LL2, to Long-Circulating Drug-Carrier Lipid Emulsions. J. Pharm. Pharmacol. 1999, 51, 1099—1105.
79. Lee, K. C.; Lee, J. Y.; Kim, W. B.; Cha, C. Y. Monoclonal Antibody-Based Targeting of Methotrexate-Loaded Microspheres. Int. J. Pharm. 1990, 59, 27—33.
80. Akasaka, Y.; Ueda, H.; Takayama, K.; Machida, Y.; Nagai, T. Preparation and Evaluation of Bovine Serum Albumin Nanospheres Coated with Monoclonal Antibodies. Drug Design Del. 1988, 3, 85—97.
81. Illum, L.; Jones, P. D.; Baldwin, R. W.; Davis, S. S. Tissue Distribution of Poly (Hexyl 2-Cyanoacrylate) Nanoparticles Coated with Monoclonal Antibodies in Mice Bearing Human Tumor Xenografts. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1984, 230, 733—736.
82. Bellet, D.; Bidart, J. M.; Rougier, P.; Bohuon, C. Use of Monoclonal Antibodies in the Treatment of Cancer of the Pancreas: Towards New Progress? . Bull. Cancer (Paris) 1990, 77, 283—238.
83. Pimm, M. V.; Baldwin, R. W. Quantitative Evaluation of the Localization of a Monoclonal Antibody (791T/36) in Human Osteogenic Sarcoma Xenografts. Eur. J. Clin. Oncol. 1984, 20, 515—524.
84. Thielemans, K.; Maloney, D. G.; Meeker, T.; Fujimoto, J.; Doss, C.; Warnke, R. A.; Bindl, J.; Gralow, J.; Miller, R. A.; Levy, R. Strategies for Production of Monoclonal Anti-Idiotype Antibodies against Human B-Cell Lymphomas. J. Immunol. 1984, 133, 495—501.
85. Mach, J. P.; Carrel, S.; Forni, M.; Ritschard, J.; Donath, A.; Alberto, P. Tumor Localization of Radiolabeled Antibodies against Carcinoembryonic Antigen in Patients with Carcinoma: A Critical Evaluation. N. Eng. J. Med. 1980, 303, 5—20.
86. Fidler, I. J. The Evolution of the Metastatic Phenotype. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 1991, 32, 486—487.

87. Trubetskoy, V. S.; Berdichevsky, V. R.; Efremov, E. E.; Torchilin, V. P. On the Possibility of the Unification of Drug Targeting Systems: Studies with Liposome Transport to the Mixtures of Target Antigens. Biochem. Pharmacol. 1987, 36, 839—842.
88. Matzku, S.; Krempel, H.; Weckenmann, H. P.; Schirrmacher, V.; Sinn, H.; Stricker, H. Tumour Targeting with Antibody-Coupled Liposomes: Failure to Achieve Accumulation in Xenografts and Spontaneous Liver Metastases. Cancer Immunol. Immunother. 1990, 31, 285—291.
89. Ranney, D. F. Drug Targeting to the Lungs. Biochem. Pharmacol. 1986, 35, 1063—1069.
90. Buchegger, F.; Haskell, C. M.; Schreyer, M.; Scazziga, B. R.; Randin, S.; Carrel, S.; Mach, J.-P. Radiolabeled Fragments of Monoclonal Antibodies against Carcinoembryonic Antigen for Localization of Human Colon Carcinoma Grafted into Nude Mice. J. Exp. Med. 1983, 158, 413—427.
91. Sivam, G.; Pearson, J. W.; Bohn, W.; Oldham, R. K.; Sadoff, J. C.; Morgan, A. C. Immunoconjugates to a Human Melanoma-Associated Antigen. Cancer Res. 1987, 47, 3169.
92. Hurwitz, E.; Levy, R.; Maron, R.; Wilchek, M.; Arnon, R.; Sela, M. The Covalent Binding of Daunomycin and Adriamycin to Antibodies, with Retention of Both Drug and Antibody Activities. Cancer Res. 1975, 35, 1175—1181.
93. Johnson, D. A.; Barton, R. L.; Fix, D. V.; Scott, W. L.; Gutowski, M. C. Induction of Immunogenicity of Monoclonal Antibodies by Conjugation with Drugs. Cancer Res. 1991, 51, 5774—5776.
94. Dougherty, T. J. Photodynamic Therapy—New Approaches. Semin. Surg. Oncol. 1989, 5, 6—16.
95. Rakestraw, S. L.; Tompkins, R. G.; Yarmush, M. L. Antibody-Targeted Photolysis. In Vitro Studies with Sn (IV) Chlorine Covalently Bound to Monoclonal Antibodies Using a Modified Dextran Carrier. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1990, 87, 4217—4221.
96. Omelyanenko, V.; Gentry, C.; Kopeckova, P.; Kopecek, J. HPMA Copolymer-Anticancer Drug-OV-TL16 Antibody Conjugates. II. Processing in Epithelial Ovarian Carcinoma Cells In Vitro. Int. J. Cancer 1998, 75, 600—608.
97. Bagshawe, K. D. Antibody-Directed Enzyme/Prodrug Therapy (ADEPT). Biochem. Soc. Trans 1990, 18, 750—752.
98. Antoniw, P.; Springer, C. J.; Bagshawe, K. D.; Searle, F.; Melton, R. G.; Rogers, G. T.; Burke, P. J.; Sherwood, R. F. Disposition of the Prodrug 4-(bis (2-Chloroethyl) Amino) Benzoyl-L-Glutamic Acid and its Active Parent Drug in Mice. Br. J. Cancer 1990, 62, 909—914.
99. Bagshawe, K. D.; Sharma, S. K.; Springer, C. J.; Antoniw, P.; Rogers, G. T.; Burke, P. J.; Melton, R.; Sherwood, R. Antibody-Enzyme Conjugates can Generate Cytotoxic Drugs from Inactive Precursors at Tumor Sites. Antibody Immunoconj. Radiopharm. 1991, 4, 915—922.

（罗宏伟 译）

Y

用于制剂产品开发的专家系统

Raymond C. Rowe
Ronald J. Roberts
AstraZeneca, Macclesfield, Cheshire, United Kingdom

引言

无论是口服制剂（如片剂、胶囊）、非胃肠道（如静注）给药制剂，还是其他制剂产品，它们的处方设计过程通常是相同的。这个过程从某种制剂标准开始，以满足要求的一个或多个处方为目标。尽管处方包含一系列组分及配比，同时还包括一些工艺参数，规格从一种应用到另一种应用有显著的变化。但在一些情况下，它是很特定的，在特定试验或很常规的试验中以性能水平表示，它也包含潜在的相互矛盾的性能指标，需要处方设计者按经验去重新定义。图 1 为一个典型的处方设计过程，分解成各项任务和子任务[1]。

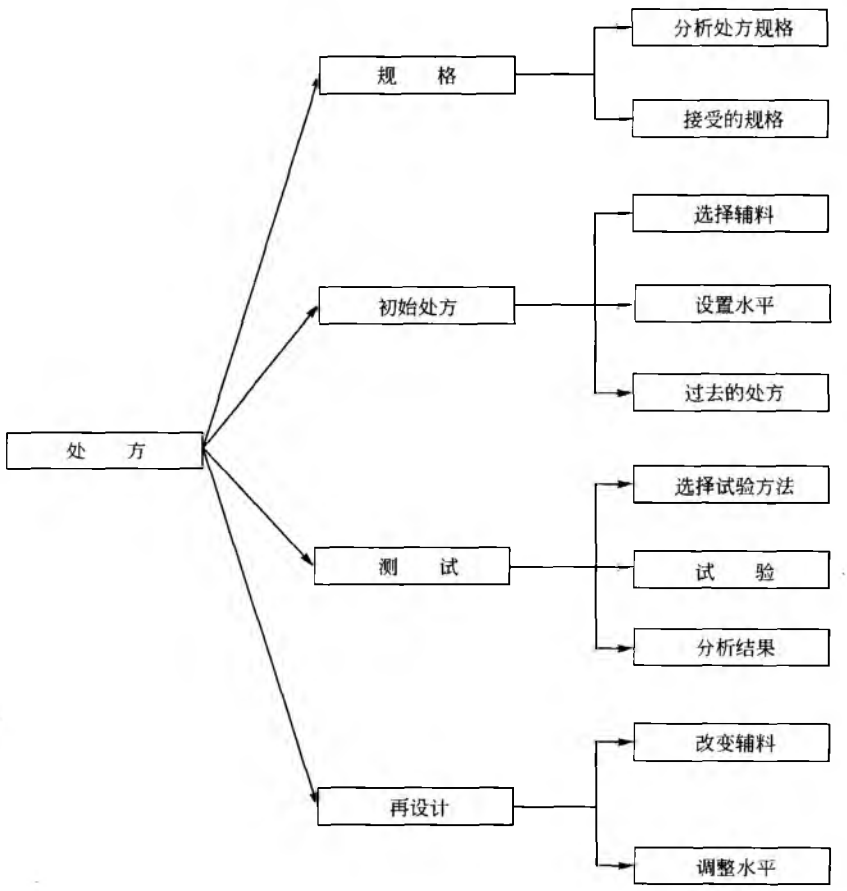


图 1　处方设计过程中的任务与子任务[1]

在设计处方时，药剂工作者必须考虑活性成分的性质及其与其他辅料可能的相互化学作用，辅料用于改善可加工性及产品性质，因为这些相互作用可能导致化学不稳定性。甚至在添加的辅料之间也存在相互作用，从而导致物理不稳定性。和产业政策一样，商业因素对辅料的使用也有重要影响，目标市场的生产因素也是如此。药剂工作者通常通过以前处方数据并使用数学模型，在处方设计期间，要用特定的试验来评价建议处方的性质，对意外的结果进行分析，可以对辅料及其用量进行调整。

技术

在定义什么是专家系统时存在广泛分歧，举例如下：

(1)“专家系统是以知识为基础的系统，用来模拟专家在特定的专业领域解决重大问题的思想”[2]。

(2)“专家系统是一个计算机程序，从人类专家的知识库中获取知识，用来解决通常需要人类专业知识的问题”[3]。

最简单的专家系统有3个主要部分：①界面、监视器、键盘，允许用户与系统之间双向沟通；②知识库，储存了有关本领域的所有知识；③推理引擎，提取并组织知识来解决手边的问题。推理策略可以是归纳，系统从使用者建议的数据与信息中推理而形成假设；也可以是演绎，从假设开始，然后试图找到证明或否定假设的数据和信息。两种策略均包括在大多数专家系统中。

在任一领域中知识形成于事实和启发式知识，前者是真实、可信的，并通过激烈的争论证实，后者（经常被称为拇指规则）是专家在某个特定环境做的最好判断，因而仅被个别确证。与这些相关的是数据与信息，前者指事实与图表，后者是经过转化的数据，这些数据对人们获得这些信息是有意义的。因而，知识可以认为是结合启发性知识和规则的信息。知识工程师的目的是获得并引出这些知识，并以计算机可读的格式组织它们。

获得知识可能是开发专家系统最困难的阶段之一，它既费时又乏味，同时既昂贵并经常难以管理，然而，它是构建专家系统必需的元素，如果做得好，无疑带来潜在有用的系统。知识获得的基本模式是一个小组过程，在小组中知识工程师需要协调专家、用户及知识库。知识工程师必须从专家和所有其他潜在资源，包括书面文件（研究报告、参考手册、操作规程说明），以及顾问、用户及管理者处，获得或引出知识。至于专家，知识通常通过面对面交流获得。然而这个过程很乏味，对专家和知识工程师都有很高要求，它需要很少的设备（如磁带录音机或记录本），具高度灵活性，经常获得大量的有用信息。自始至终，参与者必须专心投入，在很多情况下，交流时有两个知识工程师在场很有帮助。

获得知识过程中经常使用到的技术是快速建模途径。在这个途径中，知识工程师尽可能早地建好一个小的模型系统，然后供专家和用户提出修改或增加的建议。随着更多的信息和知识被获得，系统亦在增长。这种方法已成功用于制剂处方系统的开发。

一旦获得知识，有很多方法来表达知识库中的知识，包括制作规则、框架，与语意相关的网络工作，决策表和树图及对象[2]。最常见的方法可能是制作规则，通过在一定的条件成立的条件句表达几方面信息间的关系，如：

IF	条件1
AND	条件2
OR	条件3
THEN	操作
UNLESS	例外
BECAUSE	原因

每条规则执行一段独立的知识，并且该规则容易理解，不幸的是，庞杂的知识需要大量的规则，从而造成系统难以管理。采取什么方法表达知识，主要由此领域的复杂程度决定。

专家系统可以使用传统的计算机语言、特殊用途语言，或在开发壳或工具箱的帮助下开发。传统语言如PASCAL和C语言，具有应用广泛及灵活的优点，可以生成所需的“控制、推理策略”。它们有很好的支持，易于用户化。然而，需要花费大量的时间和精力来生成基本的设施。

专业语言，如LISP（递归语言，人工智能研究的主要语言）、PROLOG（以一级预测逻辑为基础的语言）和SMALLTALK（面向对象的语言）已广泛地用于专家系统的开发。它们具有传统语言的适用性及灵活性的优点，执行植更快。

专家系统外壳与工具箱是用传统或专业语言编写的成套计算机程序，这些程序装载相关知识时能形成专家系统。专家系统具有适用性及灵活性的优点，且开发速度更快。许多系统提供基本设施，包括按规则准备和储存知识的方法，并在推理过程中链接这些规则做出推论。

外壳的次级特征各不相同，如用户界面、操作速度、知识显示的方式以及与之相关联的运算规则和数学计算能力。因而，处方设计是一项非常专业的任务，需要专业知识及多年的经验。这种专业知识不容易阐述，因而，高级的处方设计者经常花大量的时间来训练新职员。另外，退休或人事变动可能造成不可替代的商业知识损失。计算机技术以专家系统的形式提供一个负担得起的方法，捕获这些知识，并给所有人提供以可用的文档格式的专业知识。

一个在产品处方设计中特别重要的外壳称为产品处方设计专家系统（Product Formulation Expert System，PFES），现称为Formulogic，由美国Logica公司开发。Formulogic，一个可重复使用的软件核心及相关的方法学，能支持一般的处方设计过程。它源于20世纪80年代中期的研究工作，现用作多种工业部门的不同的处方设计支持工具，最显著用于制剂方面[4,5]。

Formulogic专门为构建处方系统而设计。它的处方设计能力是通用的，即并不局限于任何专业领域。通过外壳定义此领域的特征和相关的处方设计方法，可以开发单个的处方设计应用程序。最终的结果是处方设计者的决策支持工具，它在处方开发过程的所有方面提供帮助。Formulogic给专家系统开发者提供知识显示的结构，对大多数产品处方设计任务来说，此结构是很通用的，因此可以快速有效地开发一个新的应用程序。Formulogic的框架包括3个层次——物理层次、任务层次、控制层次。

Y

物理层次包括处方设计领域中大量信息资源中（包括数据库）的所有“栓与螺”。物理层次通过查询界面从任务层次进入。物理网络包括在许多目标领域的知识。一个目标包含一套属性，每一个属性的赋值为0或更多。这些目标以分类系统排列。子目标源于另一个目标，继承它们的属性和值。

任务层次是解决处方设计问题的场所。处方设计过程由生成的分级结构的任务驱动。任务代表某个明确定义的活动。分级结构有无限多的任务层次，关于处方设计应用领域的知识通过此分级结构发布，更抽象的知识代表分级结构的上层，而更具体的知识代表底层。

任务的分解可以让解决问题的过程在很大程度上从任务间分离出来，并有助于对子问题的推理。一个重要原则是任务仅安排或直接操纵其直辖的子任务。这个原则的反复应用是使处方设计系统成为一个整体的关键。当解决问题的过程在进行时，取决于手头的标准，可以动态地建立任务树。这与目标的分级结构是不同的，对于特定的领域，目标分级结构是固定的。

议程表，一类特别重要的用于任务间交流的目标，也是任务层次的一部分。议程表的重要性在于用户原则上通过操作它们来控制处方设计的过程。用户因平行推理和反向跟踪，有必要保留多个窗口，一个窗口包含一个处方设计目标和标准目标，以及议程表，换句话说，即对任一时刻，对处方设计过程状态的完整描述。任务在一个或多个窗口运行。任务运行而不参考其他窗口，那是无意义的。

任务通过执行过程而履行其功能，每个任务包括几种类型的过程。状态前过程评价任务在当前环境中是否承担合理的角色。此活动过程承担任务的主要工作，这一工作包括安排子任务的下一步动作。监视过程在子任务之间执行，通常是评价其结果。最后，状态后过程在完成前立即对任务的成功进行整体的评价。

每一过程包括一套制作规则。如果规则的条件是真的，它将启动，否则即是假的。当一个规则启动时，其过程将执行。原因仅是提供信息，Formulogic不做解释。

规则被指定了优先次序，此优先反映在它们应被考虑的次序上。当执行一个规则时，规则以一定的次序试用直到没有更多的规则能启动。为找到合适的规则，Formulogic首先以优先顺序，然后以专一性来命令规则。第一规则有真实条件和假异常时启动，它执行动作。然后寻找下一个能启动的规则的过程再重新开始。为避免无限循环，有相同的变量时规则仅被允许启动一次。

控制层次关心运行任务层次的机制，它不包括专业领域知识，当建立一个新处方设计系统时，它不需要做设计上的修改。尽管任务层次决定了哪个任务需要运行及运行的次序，但是控制层次处理实际运行的机制，并将控制权传给它们。

一个完整的应用程序的典型功能如下：

（1）用户输入产品的技术要求，即处方设计的起点。如在片剂处方设计中，它包括药物的细节（除非系统已知）和剂量。

（2）Formulogic通过一系列任务逐步来选择辅料，并基于产品的技术要求确定其用量。通过遵循这些在系统开发时已被输入的规则及其他知识来完成这一目标，形成了一个初始的处方。

（3）如果系统在生成初始的处方外，要重新设计处方，那么用户可以输入产品测试的结果。Formulogic将根据测试结果来确定处方有何问题。当用户看到系统对问题的分析合适时，可以接受或进行修改。它用问题总结来建议需要添加什么辅料或其用量需要调整，同样，用户可以按照自己的意愿忽略这些建议。一旦用户对这些建议满意，Formulogic将产生一个满足新要求的调整过的处方。

在设计中的任何时间点，用户都可以要求对结果做点解释，浏览系统的知识，或回到此过程的更早时期来修改技术要求并获得另一个处方。用户也可以与相关的产品技术要求一起保存处方，并生成打印的报告。

应用

Bradshaw于1989年4月27日在《伦敦财经时代》杂志[6]上首次报道了制剂产品处方设计领域的专家系统的使用。紧接着，在同年秋季，Walko[7]也发表了一篇。两篇都引用了该项工作，然后由英国ICI/Zeneca制剂公司（现在叫Astra Zeneca）和英国Logica公司的员工承担，并运用Formulogic开发了制剂处方设计的专家系统。自那时起，一些公司和研究机构已报道了他们在这一领域的经历（表1）。本章将综述这些应用。

表1 已报道的制剂产品开发专家系统的应用

公司/机构	领域	开发工具
Boots Company	局部给药	Formulogic
Cadila Laboratories（India）	片剂	PROLOG
University of Heidelberg	气雾剂 片剂 胶囊剂 注射剂	C/SMALLTALK
University of London/ Capsugel	胶囊剂	C
Sanofi Research	胶囊剂	Formulogic
Zeneca Pharmacerticals	片剂 非肠道给药剂型 薄膜包衣剂型	Formulogic

1. Boots系统

尽管不是严格地为制剂处方设计而开发，但因为它是所知的唯一一个用于护肤用品处方设计的系统，我们也在此介绍。此系统用于协助处方师设计防晒护肤产品处方，这是一项高技能的职业，需要3～4年的实践经验来达到相应的水平。

采用了 Formulogic，这个称为 SOLTAN 的系统使用了与高级处方设计师交流而得来的知识。辅料、工艺和处方的关系以一种能反映实际情况下它们的组合和联系的方式呈现。另外，现存的信息资源，如数据库，处于以框架为基础的语意网络中，该网络受解决问题模块的操控。将任务结构化，该结构随当前问题解决的进程而变。关于处方设计的知识通过任务分层结构分配，策略性知识到达顶层，战略性知识到达底层。

开发这个系统起初用来设计防晒油（在润肤剂中加入吸收紫外线的溶液），但随着基本乳化技术的发展，已被快速拓展了，覆盖了水包油的洗剂，后来该系统进一步扩展到油包水、水包油及硅油包水的乳膏及洗剂。现在，它用于设计所有类型的护肤用品，不仅仅是防晒产品[8]。此系统在 1991 年获得英国 DTI Manufacturing Intelligence Awards 二等奖。该系统是唯一一个开发者给出详细的成本及定量收益说明的系统。

2. Cadila 系统

印度 Ahmedabad 的 Cadila Laboratories 有限公司已开发一专家系统，用于片剂的处方设计（基于主药的物理、化学及生物学性质）[9]，此系统首先确定了为优化（与主药兼容的）辅料的期望性质，然后根据设定选择满足要求的辅料，假设是所有的片剂处方至少包括一种黏合剂、一种崩解剂和一种润滑剂。然后，再按要求加入其他辅料，如稀释剂（填充剂）或助流剂。

通过与该领域的专家“积极合作”6～7 个月获取了知识，按照电子数据表格式分在两个知识库中。在主药与辅料相互作用的知识库中，竖栏标题显示了辅料的（强、中或弱）性质。横栏显示了主药的性质，如功能性基团（伯胺基、仲胺基、强酸性等）、溶解度（极易溶、易溶、溶解、难溶、微溶、极微溶、不溶）、相对密度（低、中、高）等。电子数据表的每个单元格显示了各种性质之间相互作用的知识。源于这种知识的设计规则形式如下：

IF	主药的功能基团是“伯胺/仲胺”
THEN	加“强”黏合剂
AND	加“强”崩解剂
AND	避免乳糖
或	
IF	主药的功能基团是“强酸性”的
THEN	加“中等”黏合剂
AND	加“中等”崩解剂
AND	避免淀粉
或	
IF	主药是可溶性的
THEN	加“弱”黏合剂
AND	加“弱”崩解剂

相似的方式用于辅料的知识库中，竖栏显示其辅料详情，如名称、最小、最大和正常浓度，横栏显示其性质，如类型和描述语——强、中、弱，电子数据表中每个单元格中显示辅料名称及加到处方中的量。

该系统用 PROLOG 编写，用菜单驱动并与用户互动。首先提示用户输入新的活性成分所有已知的性质。如果性质有描述语，用户能选择一个适合的。可以编辑所有的信息来纠正错误。然后专家系统能咨询知识库，给出相容的辅料和处方。如果处方不能接受，系统提供别的替代处方并加以解释。如果必要，所有的处方能和解释一起储存起来。用户能通过界面用电子数据表来更新知识库。表 2 是生成处方的例子，即解热镇痛药扑热息痛或乙酰氨基酚，剂量 500mg。有趣的是，稀释剂/填充剂没有指定，可以判断不是乳糖，因为相关的生成规则显示，扑热息痛的仲氨基能与乳糖相互作用，而且，对市售处方的调查显示没有一个含有乳糖，有一些包括玉米朊淀粉、羧甲基淀粉钠、硬脂酸、硬脂酸镁及微晶纤维素的混合物，这进一步增加了 Cadila 系统的可信度。

表 2 Cadila system 应用于解热镇痛药扑热息痛片剂处方的一个例子[9]

输入		
剂量	500mg	
功能团	仲胺基	
溶解性	微溶	
相对密度	适中	
吸湿性	适中	
溶出	慢	
预期的片重	570mg	
输出		
活性成分	对乙酰氨基酚	500.0mg
黏合剂	预胶凝淀粉	43.7mg
崩解剂	羧甲基淀粉钠	5.0mg
润滑剂	硬脂酸	2.5mg
稀释剂/填充剂	未命名	20.0mg
	片重	571.2mg

当首次应用时，原型系统有 150 个规则，但为增加可信度已快速扩展到近 300 个。以后可能会继续增加，此系统公认为相当成功，能为公司提供竞争优势[9]。

3. Galenical 开发系统（GSH）

GSH 由德国 Heidelberg 大学的制药与生物制药系及医学信息系的职员开发。设计用来帮助开发一系列处方，起始于主药的化学及物理性质。这个计划于 1990 年在 Stricker 等[10]指导下启动，中间被大刀阔斧地修改及补充[11,12]，

起初在工作站使用面向目标 C 语言来运行，系统最近用 SMALLTALK V 升级，并可在个人计算机的 Windows 操作系统下运行。

使用的不同知识显示的形式依赖于知识的类型。关于对象的知识，如主药的功能性基团、辅料、制备过程等，它们的性质及相互关系通过面向对象的方式在框架内显示。规则显示了因果关系，公式显示了功能性的衔接，演绎显示了程序式的知识。目前这个系统已经有了气雾剂、静注溶液、胶囊（硬壳粉末）及片剂（直接压片）的知识数据库。每一个库包括了剂型设计方面的所有信息，如加入辅料的性质、相容性、操作过程、包装、容器及储存条件，每个方面给出可靠性因子（Sicherheitsfaktor）来指示其准确性（或可靠性）。在此系统以前的版本中，用 0～9[10] 的数字来评估每一个因子；然而，现在用 0～1 之间的值来评价。用算术最小规律来显示这个值，这些值不作决策用，仅作为知识准确性、可靠性的指标。

系统中使用的方法是将整个过程分解成一个个不同的开发阶段，每一阶段都集中在与处方设计的技术要求或局限性有关的某一个问题上。如果一个问题的预测结果弥补了它的局限，可认为该问题解决了。解决问题是一个顺序的过程，要注意任何一个解决问题的方法都不应该违背前阶段的限制。简而言之，开发者应将预定义的顺序强加到开发的每一阶段，并提供一个反馈机制能回到以前的阶段或取消。这种顺序使开发阶段之间的依赖性最小化，这种依赖性可能导致以前已解决的局限又被违背。此顺序也减少了解决问题的复杂性。

一个开发步骤（如辅料的选择）的程序式模式列在图 2 中。在任一个开发阶段中，首要决策是在前面的阶段中问题已被解决后，是否继续执行。通过比较目前处方的预测或相关性质与初始的技术要求来执行。如果回答是否定的，将要求进一步的行动；如果是肯定的，问题已被解决。一旦决定后，需要定义下一步行动并加以排序。为此，知识通过分层结构规则来形成决策树，这儿，每一个叶结包含一组活动，每一个树枝包含一个规则。规则列中的规则为处理冲突的最简单、最直接的方法。序数用作选择策略的基础。根据最高分值，此概念将搜索最好的替代物，这些分是在开发过程中（如溶解度、或可压性等）被不断解决的分值之和，它们的大小显示出它们之间的重要性[11,12]。应注意，这种划分等级的方法不同于以前 Stricker 等[10] 使用的方法，Stricker 是将最低的分值看做是最佳的选择。

一旦选择行动后，根据方法是否对主药的物理、化学的不相容性有影响来检查决策的正确性。这并不意味着对行动的否定，由于相容性的知识通常是定性的，很少严格地用来定量。因此，所有的决策权均交给了用户。

为选择一个合适的处方，Formulae 基于一定规则的机制计算出被使用辅料的数量。以规则为基础的机制也被用于预测中间处方性质的适当功能。对于检测初始的技术要求

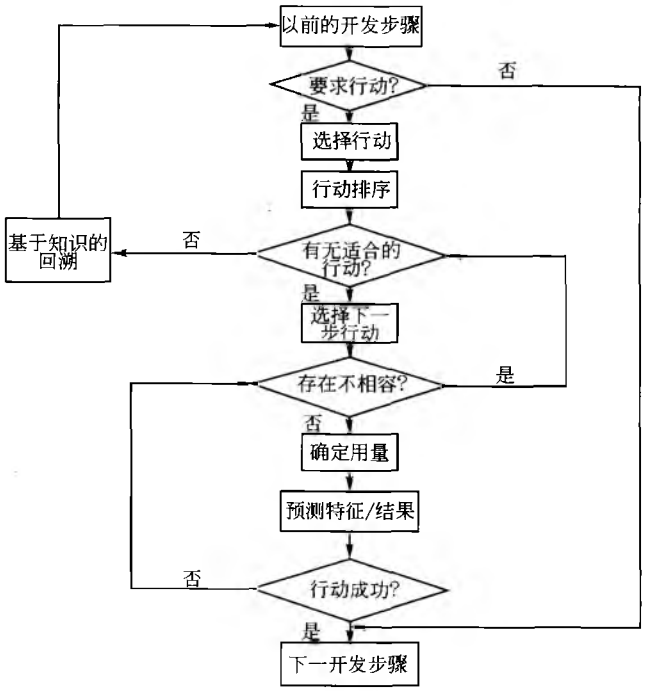


图 2 GSH 中应用的开发步骤的程序模式（参考文献［12］修改后）

是否达到要求及行动是否成功来说，那是必须的。如果不是，选择的行动被否定，将试验下一序列的行动。也可能序列中的行动没有一个成功。如果是这种情况，制剂知识库反馈系统将返回到上一开发步骤。通常，应用背景的制剂知识去检查当前的开发步骤为什么不成功，选择新的开发步骤以解决问题的根本原因。

在任何专家系统中，无论是指导用户还是维护系统，决策的解释是很重要的，GSH 的解释采用几种形式。有知识库的设计者提供的研发步骤及其顺序的解释。需要时可以生成激活的规则、使用的公式或行动的得分的详细解释，为常规知识提供背景及参考文献。

图 3 中列出了制备一个静脉注射溶液的最简单的任务结构。在系统中输入的内容包括处方中主药所有已知的性质，如溶解度、稳定性、杂质、pK_a、是否有功能基团，及用户定义的药物特定性质与所要求的产品性质相关的标签。系统的使用产生四个包，即产品处方、制备方法、推荐的包装及储存条件，以及预测的产品性质。所有的输出均用提供可靠性因子。例如，心血管药物地高辛的静脉注射溶液由表 3 所示，抗真菌药物灰黄霉素的硬胶囊剂列于表 4。比较 0.1mg 规格地高辛的商业处方和表 3，发现使用了相同的潜溶剂（1，2-丙二醇，可增加其溶解度）和乙醇，然而商业处方由于包含缓冲液（磷酸氢二钠/柠檬酸）而显得更复杂。

表 3 GSH 给出的心血管药物地高辛静脉注射液组成的例子[10]

处方		
活性成分	地高辛	0.1mg
溶剂 1	1，2-丙二醇	0.5mL
	注射用水	1.0mL
包装		
棕色玻璃安瓿		

产品性质

性质	规格	实际规格	R. F.[1)]
活性成分/mg	0.095	0.098	1.0
体积/mL	1.0	1.0	1.0
pH	3～9	7.0	1.0
冰点降低/℃	0.5～20	13.2	0.8
25℃下储存期/a		5.0	1.0
25℃下分解/mol		1.8	0.7

1）R. F.，可靠因子。

表 4 GSH 给出的抗真菌药物灰黄霉素硬明胶胶囊组成的例子[12]

处方		
活性成分	灰黄霉素	150.0mg
稀释剂	微晶纤维素（PH102）	199.2mg
润滑剂	硬脂酸镁	3.5mg
生产过程		
松团作用，预先混合和总混用高切应力搅拌器		
加入润滑剂，用行星式搅拌机以 12r/min 搅拌 3min		
1 型胶囊填充机		
包装		
泡罩（PVC 和铝箔）		

现在，用于气雾剂、静脉注射溶液、硬胶囊及（直接压缩成型的）片剂的知识库已完成。其他的如用于包衣剂型、颗粒剂、冻干制剂及小丸的知识库都在不同的开发阶段。试验显示系统推荐的处方能被处方设计者所接受，在 1996 年 12 月，此系统首次用于某制药公司的现场测试。

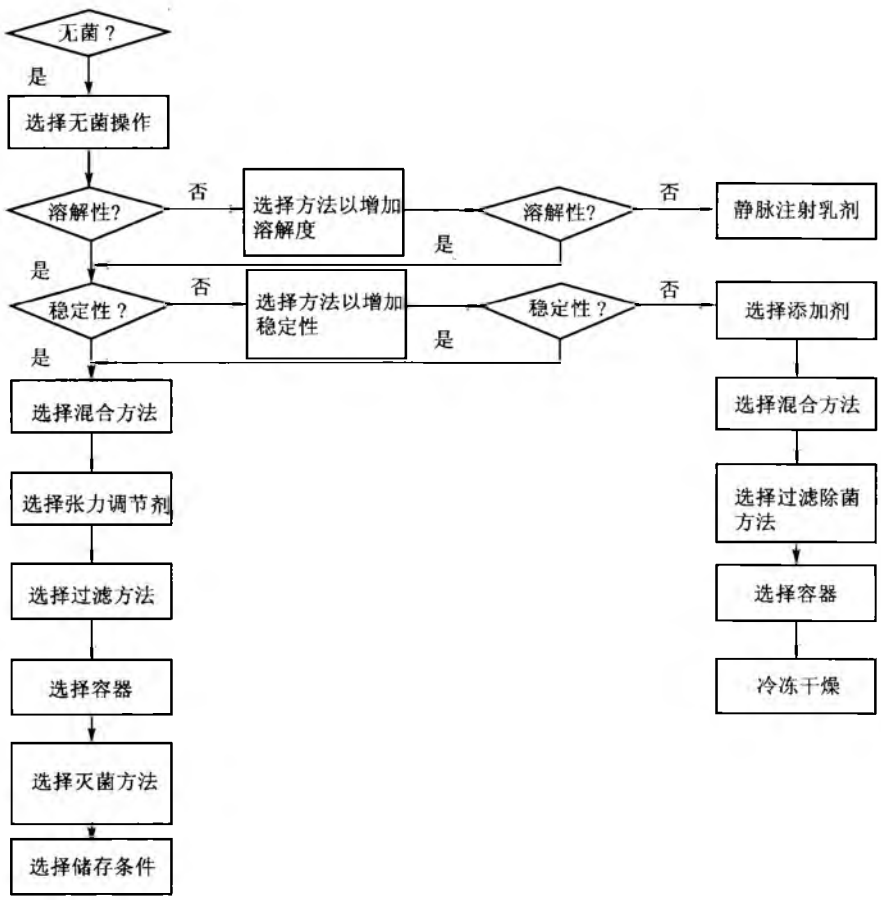


图 3 Stricker 等描述的专家系统结构[10]用于静脉注射溶液的处方设计

Y

4. 伦敦大学的 Capsugel 系统

该系统设计用于辅助硬明胶胶囊的处方设计[13~15]，作为 Ph. D. 项目的一部分由伦敦大学药学院的 Lai、Podczeck 及 Newton 开发，得到瑞士的 Daumesnil of Capsugel 的资助，日本京都大学及美国马里兰大学的人员也参与了开发。此系统（图 4）在知识库的广度方面是独一无二的，包含如下内容：

（1）与硬胶囊处方相关的参考文献的数据库，它能通过当前文献的检索系统而不断地更新。

（2）使用的辅料及其性质的信息。此库目前包含 72 种辅料的信息并在不断更新，数据能通过一个菜单检索。

（3）对德国、意大利、比利时、法国及美国的市售处方进行分析，可以分析处方设计的趋势及确定辅料使用的指导原则。目前，此数据库有关 250 种主药的 750 个处方的信息。且在不断更新，数据通过菜单检索。

（4）欧洲、美国及日本的许多工业专家历时 18 个月而获得的经验及非专利所有权的知识。

（5）统计学实验设计确证哪些因素影响胶囊填充及模型药物的体外释放行为。

系统使用由 C 语言运行的决策树的生成规则，并提供了一个用户界面，通过其用户能进入数据库并开发新处方。为协助收集所有必要的输入数据，系统设计了一份问卷调查。也称为专家系统的输入包，它要求关于主药的物理性质（如剂量、粒子形状、粒径、溶解度、吸湿性、对金属表面的黏附性、熔点及堆密度），主药与辅料的兼容性（如填充剂/稀释剂、崩解剂、润滑剂、助流剂和表面活性剂），及用户和在工业化条件下使用的辅料的性质（如胶囊的大小、填充质量、使密度增加的技术、制粒技术）。

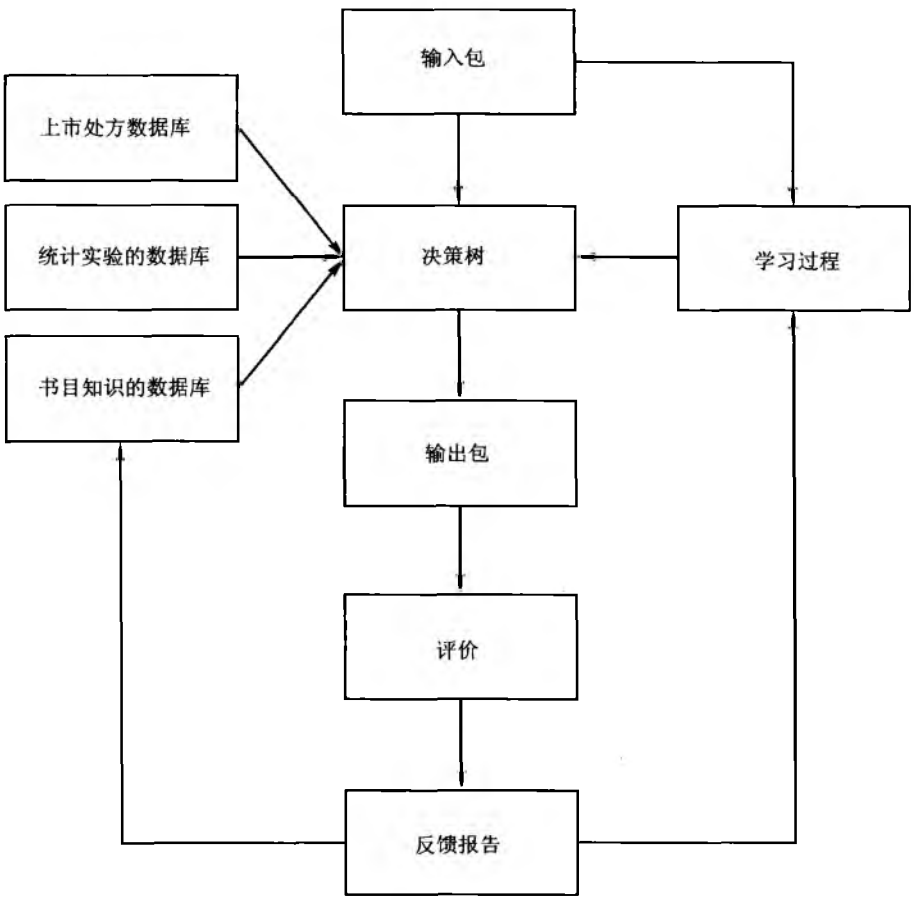


图 4 Lai 等描述的伦敦大学的 Capsugel 系统的结构

从这些数据看，系统使用多种不同的方法评价、预测主药与辅料混合物的性质。例如，用 Carr's 的可压性指数[16]来预测流动性，这可以提供形成均匀混合物能力的指标，用 Kawakita 方程[17]来预测在低压条件下可获得的粉末体积减小的最大值。该包装性质明显非常重要，它可以给出一定量的粉末所占的体积，指导我们使用合适的胶囊壳。因湿法制粒作为常用的增加密度的方法，系统仅提供关于制粒液体及黏合剂的选择建议，无关于制粒过程的选择。

系统提供一个输出数据包，包括处方（表 5）及任何必要的粉末处理及填充条件、所需的胶囊大小、定量优化处

方的统计学设计、使用辅料的规格、推荐的验证处方的试验，和决策过程的完整文件。

表 5 伦敦大学的 Capsugel 系统给出的硬明胶胶囊组成的例子[13,14]

片剂性质（输入）			
剂量/mg			50.0
溶解性			不溶
粒径/μm			5.0
最小堆密度/(g/mL)			0.4
叩实密度/(g/mL)			0.7
Carr's 可压性/%			42.857
处方			
		wt%	每粒胶囊所含的组分量/mg
活性成分	药物	39.7	50.0
填充剂	淀粉：乳糖（1：2）	56.8	71.6
崩解剂	交联羧甲基纤维素钠	2.0	2.5
润滑剂	硬脂酸镁	1.0	1.3
表面活性剂	月桂硫酸镁	0.5	0.6
囊重			126.0
胶囊大小			4 号

系统的一个令人感兴趣的附加工具是其半自动化的学习工具。它将监测用户的使用习惯及收集关于辅料使用方面的数据。对这些数据进行统计学分析，允许经授权的对数据库的更改。同时也要求用户回答关于被推荐的处方与其性能的问卷。这些数据经专家系统开发组分析，并提供进一步调整及开发的背景。

现场测试已证实，此系统的确能提供合理的处方[18]。

5. Sanofi 系统

Philadelphia 的 Sanofi 研究部门的人员最近开发了一个专家系统，用于建立在主药特定的处方前数据基础上的硬胶囊的处方设计[19]。使用 Formulogic，系统产生一个首过的临床胶囊处方，随后有足够多的处方能满足实验的设计的需要。之后的处方因用户打破系统决策规则而产生。

知识通过与处方设计者及作为顾问的知识工程师的面对面交流来获得。交流限制在 2h，花数分钟由所有参与者进行评论。交流的主题是事先规定的。采用快速的原型途径产生专家系统。

系统中的知识用 Formulogic 中的策略来划分结构，如目标及制备规则。后者如下：

IF	药物的静电性质有问题
THEN	加助流剂
UNLESS	助流剂已添加

任务的计划是动态的。图 5 给出了使用的任务结构大纲。

用户经提示首先输入关于主药已明确的处方前数据（如酸稳定性、相对分子质量、润湿性、相对密度、粒子大

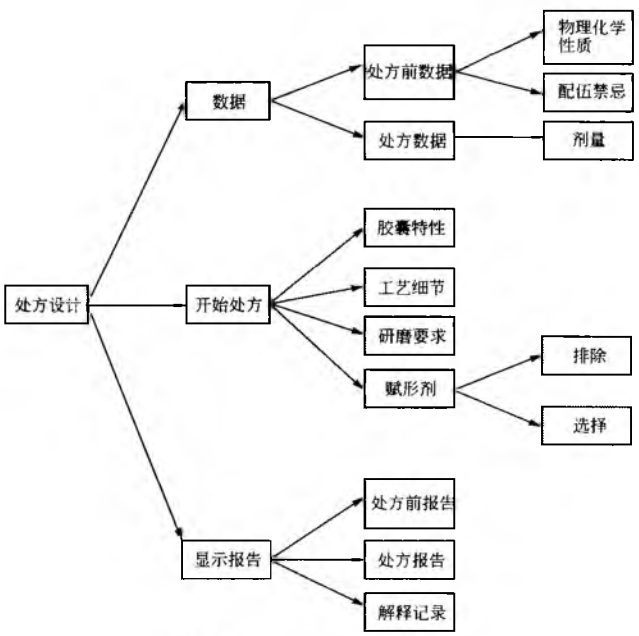


图 5 Bateman 等[19]使用的硬明胶胶囊处方设计的任务结构图

小、引湿性、熔点、溶解性等）及已知的辅料不相容性和所需剂量。在起初的处方任务中，要选择胶囊的大小、制备过程、研磨要求。选择了辅料的种类，将一些辅料排除在外，另一些优先考虑并确定其用量。在显示的报告任务中，提供了三份报告：第一份给出了处方前数据；第二份给出了建议的处方，包括辅料的用量及制备过程/研磨要求；第三份提供了决策的解释及系统使用的推理。在首次通过系统时，可能的制备过程、研磨方法及辅料的选择是自动的。在接下来的阶段，选择是可选的，用户可以设计许多处方。

系统产生一个处方的例子，如非甾体抗炎药萘普生如表 6 所示。与其他处方一样，该例子被有经验的处方设计者接受，并用于生产及初步的稳定性评价。

不幸的是，作者[19]没有提供任何关于系统状态的进一步细节，除了一些暗示，处方评价与处方前工作适用于可能的其他剂型的开发，如片剂、液体制剂及乳膏。

表 6 Bateman 等所描述的系统给出的抗炎药萘普生硬明胶胶囊处方的例子[19]

被选择药物的性质（输入）		
相对分子质量	230.26	
熔点/℃	155	
水中溶解度/(g/mL)	0.01	
润湿性	差	
水中稳定性	差	
光稳定性	差	
对水解的敏感性	否	
伯胺/仲胺	否	
吸湿性	1 型	
倾注密度/(g/cm³)	0.366	
静电问题	否	
未研磨粒径/μm	36	
处方		
活性成分	萘普生	100mg
稀释剂	乳糖（含水）	224mg
崩解剂	微晶纤维素	60mg
表面活性剂	月桂硫酸钠	4mg
润滑剂	滑石粉	12mg
产品信息		
研磨	药物的喷射研磨	
胶囊	0 号有色不透明	
加工	直接混合	
解释日志		
使用有色不透明的胶囊，因为药物对光不稳定		
药物需要混合，因为其有中等粒径且不溶		
使用表面活性剂，因为药物的润湿性差		

6. Zeneca 系统

ICI/Zeneca 制药（现在的 AstraZeneca）的专家系统始于 1988 年 4 月，随着一项由制药部与公司管理服务部共同参与的项目而启动，该项目用于调查片剂处方设计时，知识库技术的使用情况。自那时，随着工作的进展，用于片剂、注射剂、片剂薄膜包衣处方设计的专家系统的已成功开发。所有的均采用英国 Logica 公司的 Formulogic 运行，尽管系统的核心开发用于片剂薄膜包衣，这些核心起初采用规则工具生成决策树而建模。

第一个可使用的片剂处方设计系统于 1989 年 1 月[20,21]出现。所有的知识均从两个片剂领域的主要专家那里获得，一个具有广泛的启发性知识，另一个具有广泛的研究知识，这些知识通过专家咨询支持系统输入 Formulogic。最初系统的咨询时间为 30 个连续工作日，其中 20%的工作为：3 次对实验室的拜访，每次 2 天，每次 90min 与有经验的处方设计者及研究组成员面对面地交流，原型系统的说明，以前从专家及部门其他成员获得的知识有效性的确证。60%的时间用于系统开发，另外 20%用于完成最后报告。

1989 年在整个公司对管理层及处方设计者的广泛征求意见和展示后，系统于 1990 年 1 月加入数据库连接及 1990 年 9 月安装处方优化程序而得到增强。1991 年 2 月开始进行了重要的更新，其后处方设计实践中有一个重要改变。这些增强内容的咨询时间有 30 个工作日。在 1991 年 8 月，完成系统并转交给美国及英国的处方设计者。

完成的系统由图 6 所示[20]。它分为 3 个阶段：①数据、产品技术要求及方法的输入；②初始处方的确证；③测试初始处方并进行优化。顺序如下：

（1）用户输入处方中新的活性成分的相关的物理、化学及力学性质（如溶解度、可润湿性、与辅料的相容性、变形性）。数据可以是数字形式的或符号形式的，如水中溶解度的数据以 mg/mL 的形式表示，也可以输入描述性语言，如溶解、部分溶解、不溶解等。这些数据能从主药的一系列处方前试验获得，如 5g 的药物被磨成特定大小的粒子。这些数据包括辅料相容性研究，在此研究中，药物与辅料混合，并在特定的温度和湿度的条件下储存一个星期。残留的药物含量用 HPLC 法测定并以百分数表示。变形性，用以评价可压性的重要指标，可用压缩模拟器来测定屈服值及应变率的敏感性加以评价[22]。

（2）用户输入主药所要求的剂量，目标片重可以计算得到，方法是广泛研究以前成功的处方、方便操作的最小量及易于吞服的最大量某些规则的应用。

（3）用户按填充剂的数量（一个或两个）来选择策略。

（4）系统基于运算、公式及指导其相容性与功能性的混合规则选择填充剂、崩解剂、黏合剂、表面活性剂、助流剂、润滑剂及其推荐的浓度。进程中的任务动态计划，依赖于要解决的问题。如果系统不能在两种辅料之间选择，它们两个均满足所要求的规则，那么要求用户优先选择一种。

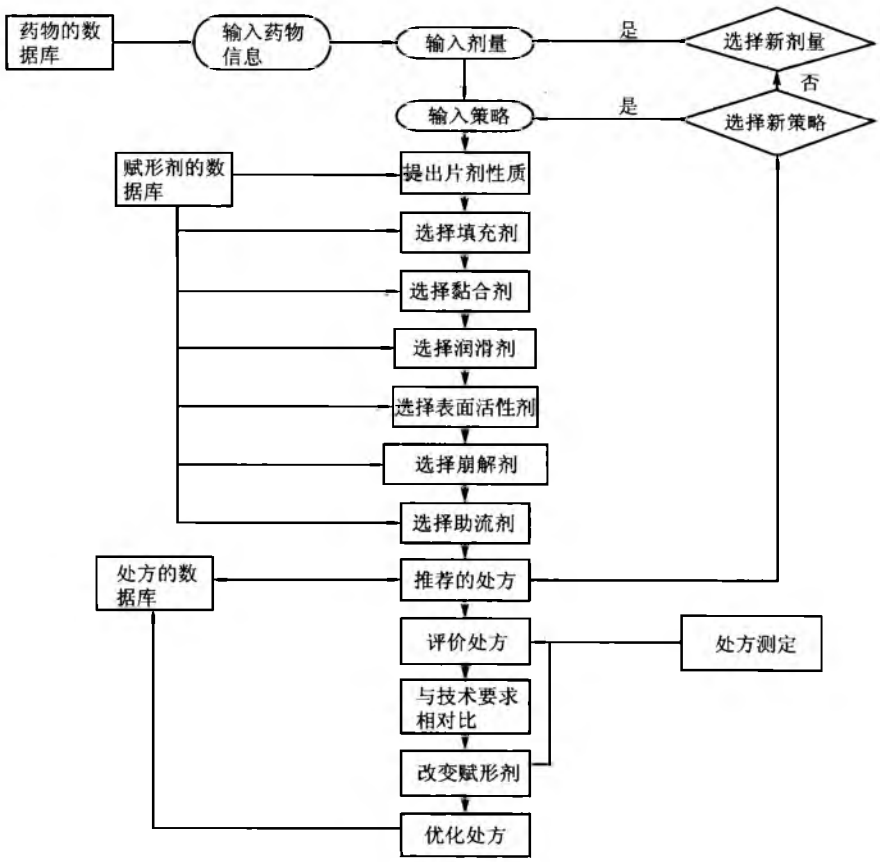


图 6 由 Rowe[20] 开发的片剂处方的专家系统的结构图

（5）系统显示推荐的初始处方，包括最终的片重、推荐的片径（直径）、压缩性能的计算及相关的数据（表 7）。通常打印出来附在实验记录本上、文件里等。如果需要，数据可以存在数据库中供将来参考，如果使用处方优化程序，这些数据是必要的。

（6）用户输入初始处方制备的片剂的测试结果。包括崩解时间、片剂硬度、片重变化、缺陷（如顶裂、叠片等）。这些结果与技术要求进行比较，发现的问题由用户进行确认。然后列出处方修改建议。这个过程完全与用户互动，用户需要肯定或否定/改变给出的建议。

（7）在达成一致后，系统依此修改处方并显示出来。这个过程可以应用多次，每次系统迭代先前修改的处方模拟。

表 7 Rowe 所描述系统给出的模型药物片剂处方的例子[20]

药物性质（输入）	
溶解度/(g/mL)	0.1
接触角	82°
极限压/MPa	50
应变率敏感性/%	50
+赋形剂配伍性	

续表

处方		数量/mg	数量/mg
活性成分	药物 A	50.0	150.0
填充剂	乳糖一水合物	166.9	—
填充剂	磷酸氢钙二水合物	—	165.7
崩解剂	交联羧甲基纤维素钠	4.8	7.0
黏合剂	聚乙烯吡咯酮	4.8	—
黏合剂	羟丙基甲基纤维素	—	7.0
表面活性剂	月桂硫酸钠	0.7	1.1
润滑剂	硬脂酸镁	2.4	3.5
片重		230.0	335.0
预期的性质		处方	
		50mg	150mg
片径/mm		8.0	10.0
极限压/MPa		139	238
应变率敏感性/%		20.8	5.1

系统中内置两种“帮助”程序：一种提供系统使用中的在线帮助；另一种提供采用特定规则/公式/运算背后的

理由。用户能随意地浏览知识库，但不能在没有许可的情况下编辑它。通篇使用超文本链接，很容易获得系统做出的任一推荐的解释。系统的两个屏幕图片列于图 7，用于图示系统的操作。

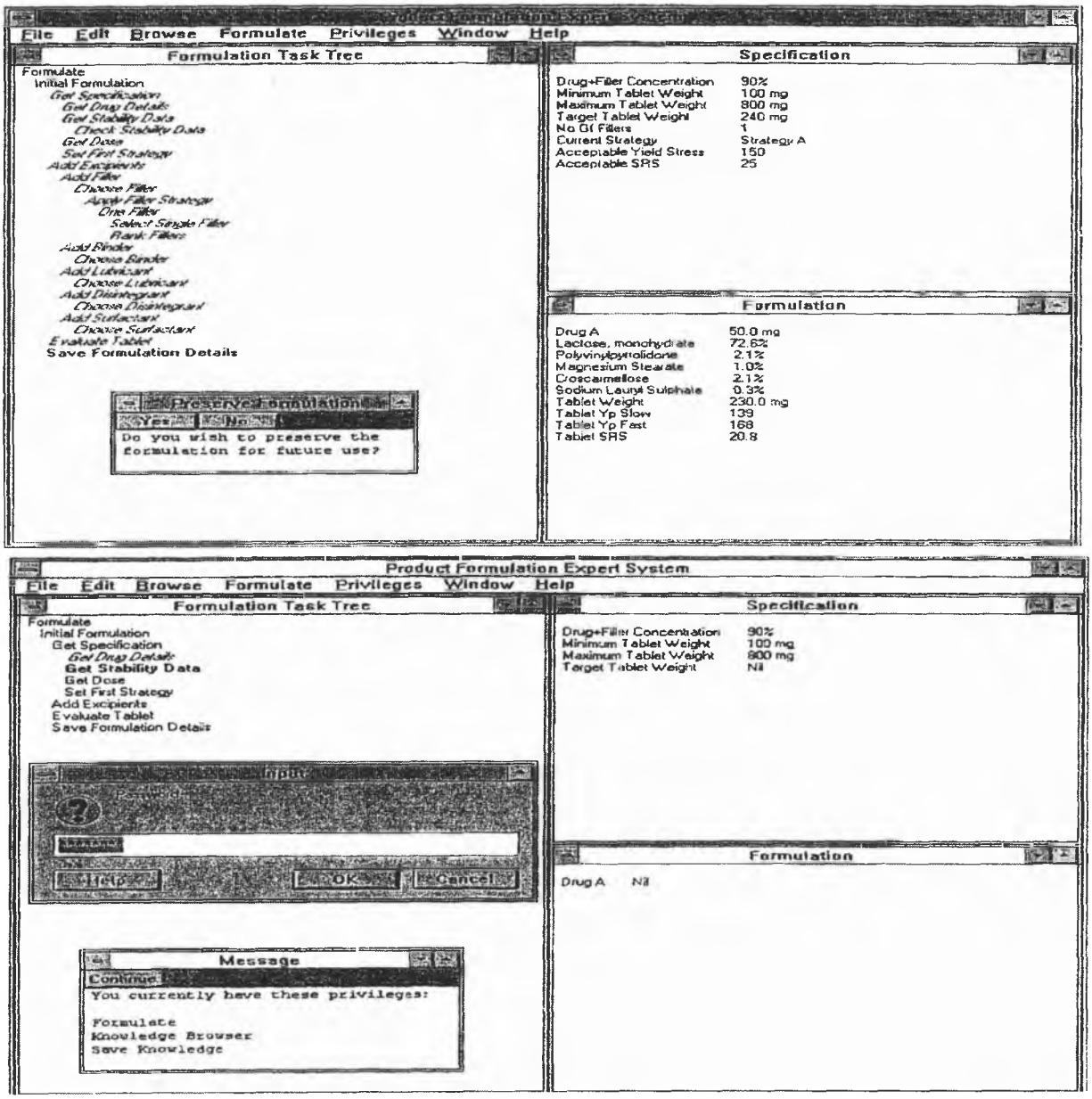


图 7 Rowe[20]描述的片剂处方专家系统的扫描图。上：显示用户与处方任务树，规格，处方和当前任务的接触窗口。以各种格式显示任务——当前任务突出显示或以粗体文本显示，已完成的任务用斜体显示，将来的任务用标准文本显示；下：显示系统的安全。口令的输入显示出用户的权限

系统被较好地使用，并成为片剂处方设计不可分割的部分。迄今为止，它已成功地设计出了超过 40 种药物的处方。在很多情况下，起初的处方与处方设计专家提出的一致。结果，处方优化程序变得多余，很少使用。

在片剂处方专家系统成功运行后，又要求开发一种用于非胃肠道给药处方设计的类似系统。此计划于 1992 年 4 月启动，在 1992 年 8 月完成[23]。系统的结构列在图 8 中。它用来设计非胃肠道制剂处方，供临床或不同动物的毒理研究（如狗、人、鼠、灵长目动物、家兔或大鼠），通过不同的给药途径（静脉、肌肉、皮下、腹腔内），以单剂量或多剂量形式包装。通过 2 个权威专家的一系列面对面交流来获得知识。顺序如下：

（1）用户输入所有关于主药的溶解度（水中与非水溶剂中）、在特定溶液中的稳定性、相容性、pK_a 及分子性质（相对分子质量，logp 等），与片剂处方系统一样，数据可以是数字形式的也可以是符号形式的。所有用在非胃肠道制剂处方中的附加剂（如缓冲液、抗氧剂、螯合剂、抑菌剂、表面张力调节剂）的相关性质列于知识库中。

（2）为优化主药在一定范围 pH 内的溶解度/稳定性，可以在选择一定的缓冲液来获得适当 pH 之前使用一系列的公式、运算及特定的规则。如果溶解度和稳定性的问题仍然存在，系统会推荐新的处方变量（如油基质或乳剂型处方——在目前的系统中还没增加）。

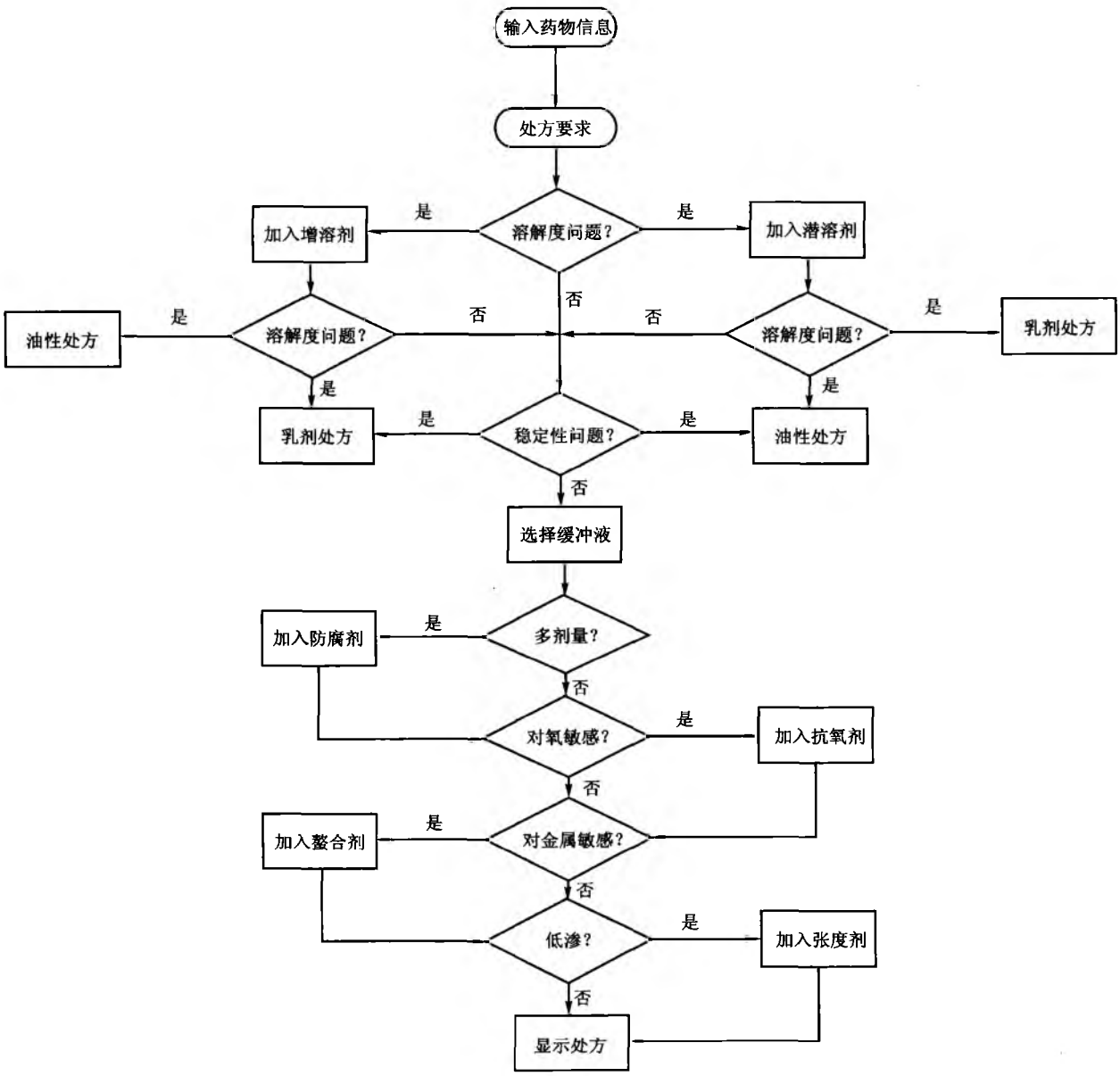


图 8　Rowe 等[23]开发的注射剂处方专家系统的结构图

（3）系统然后选择附加剂，取决于所要求的指标（如抑菌剂仅在设定的多剂量容器中加入，张力调节剂仅在溶液是低张力时加入）。这些选择策略通常以特定规则划分的序列为基础。

（4）显示推荐的处方、选用的辅料浓度［以质量浓度表达（w/v）］、计算的张力、建议的储存条件及预测的有效期（表 8）。重点观察了处方对金属、水解作用、光及氧的敏感性。这些通常打印出来放在实验室记录、文档里。如需要，处方可以存进数据库用于以后参考。

Y

表 8 Rowe 等所描述的系统给出的男性临床试验用静脉注射处方的例子[23]

药物性质（输入）		
药物类型		酸性
pK_a		4.5，3.5
相对分子质量		458.5
溶解度/(g/mL)	pH 3.0	0.5
	pH 4.0	1.5
	pH 5.0	7.0
	pH 6.0	40.0
敏感性	光，金属，氧	
处方		**用量（% w/v）**
活性成分	药物（10mg/mL）	1.00
缓冲液	磷酸氢二钠	0.87
缓冲液	盐酸	适量
螯合剂	依地酸钠	0.02
	注射用水	100.00
预期性质		
pH	7.4	
张度	高渗（1.6）	
储存温度/℃	25	
填充空气	氮气	
储存期/年	>5	

与用于片剂处方设计的系统一样，该系统包含广泛的“帮助”内容。尽管包括一个与主药处方相匹配的开发安慰剂的程序，该系统没有处方优化程序。该程序推荐了众多临床试用药的非肠道给药的处方优化设计。

片剂薄膜包衣的领域的专家系统的开发工作始于 1990 年 4 月，为了确认及解决片剂薄膜包衣中的缺点，使用规则工具。尽管不是严格的处方专家系统，但开发的系统也包含这样的知识，给定一个已知的有缺陷的处方可进行修改，并提供解决方法。Rowe 和 Upjohn[24,25] 描述的完整系统是用规则决策树（包括前推或后推链）来对错误进行完美的诊断。总的开发时间由于使用了文献知识[26]及专家的帮助，差不多用了 30 个工作日。

此系统（图 9）分为 3 个部分：确认、解决问题及信息/参考文献。在第一部分，问答程序用于缺陷的正确鉴别。用在此程序中的决策树如图 10 所示。此处要求用户通过比较储于数据库中图片的缺点来确定决策。在第二部分，要求用户输入所有相关的工艺条件及与解决缺陷最好的方法相关的处方详情。这也可能会在工艺条件中出现变化，以防止已注册处方的缺陷又出现，或改变处方，避免处方开发阶段缺陷再出现。在第三部分，用户能得到与每种缺陷相关的数据与知识。这些注册、图片或参考文献以超文本链接相连。

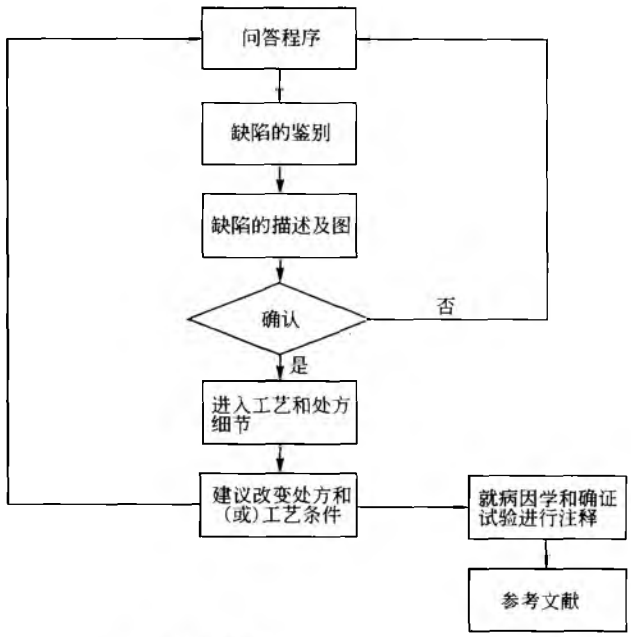


图 9 Rowe 和 Upjohn[24,25] 所描述的对薄膜包衣缺陷进行鉴别和解决的专家系统的结构图

在 1994 年，由于此系统与片剂处方系统两者的成功运行，开始决定启动一个新的系统，将薄膜包衣应用于生成的片剂处方，并将基于薄膜缺陷诊断系统的处方再设计程序组合进去[27]。新的系统结构列于图 11。系统的知识通过与两位该领域的专家的面对面交流获得，一人具有广泛的启发性知识，另一人具备广泛的研究知识。顺序如下：

（1）用户输入片剂处方的详情（如主药及所有辅料的量）及所有的片剂性质（如直径、厚度、压力、脆碎度、颜色、形状及有无刻痕）。

（2）用户输入薄膜包衣处方的技术要求（如速释/控释、肠溶、白色或着色）。

（3）系统先检查在输入的详情及所要求的技术要求之间有无矛盾（如高脆碎度的片剂很难薄膜包衣）。如有矛盾，将显示警告。

（4）系统计算片剂的表面积并选择所需的聚合物，及形成一层合理膜的推荐用量。

（5）系统选择增塑剂并检查有无稳定性/兼容性问题。如果有，要求用户选择另一增塑剂。

（6）系统定义薄膜包衣的避光目标，并确定是否需要不透明包衣。通过测量从黑色背景下与从白色背景下观测到的薄膜反射率的比值来测得不透明度（其值越高，薄膜越不透光）[28,29]。如果要避光，并要求为白色，系统运用特

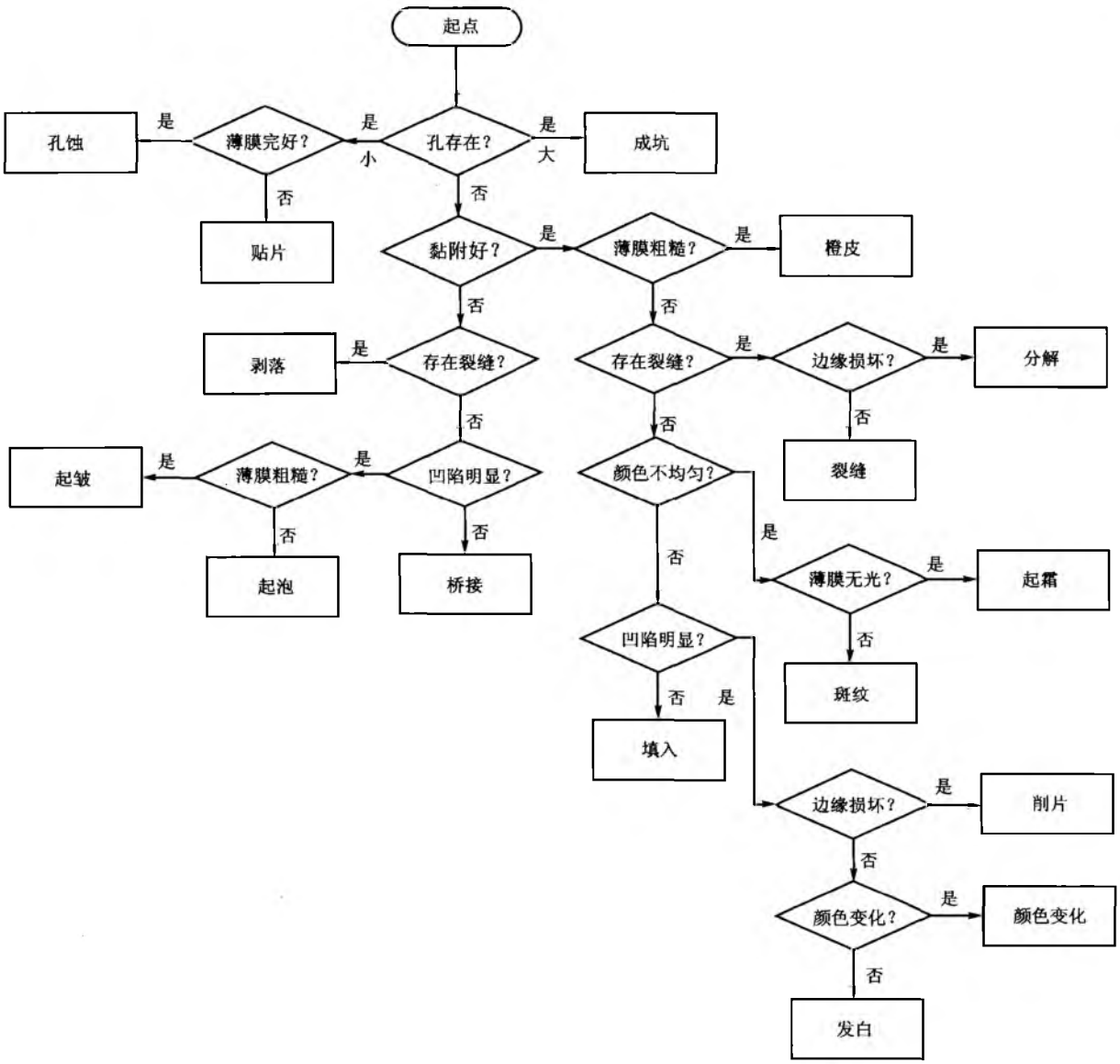


图 10　对薄膜包衣片剂上薄膜缺点的鉴定的决策树[25]

别开发的运算方法[30,31]来计算，处方前定义的二氧化钛的体积浓度及薄厚度是否可以达到目标要求。如果不需避光，将提供给用户一系列选项，如以先前定义的浓度限度继续下去、改变浓度限度或选择有色薄膜包衣。

（7）系统选择着色剂来达到目标要求，并确定水的量（系统开发成仅用于水溶液薄包衣）。

（8）系统运行用 C 语言编写的模拟程序，来预测薄包衣的破裂倾向[32~34]。

（9）显示推荐的处方（表 9），包括预测的膜厚度、不透明度及破裂倾向。如果总的喷雾时间被系统判别为太长，标准的机器配置及详细工艺也以警告的形式给出。通常将这些结果打印出来，放在实验记录本或文件中。如需要，特别是可能需要处方再设计时，将数据存在数据库中供进一步参考。

（10）在包衣后，由于缺陷的存在，处方再设计是必须的，那么系统使用改进的缺陷诊断系统建议处方和（或）工艺条件的改变。

此系统已证明在初始试验中是成功的，特别适用于一些对光不稳定或有颜色的药物、有色斑的片剂的不透光薄膜的处方设计。在预先定义的浓度限范围达到不透光目标的计算，以使处方设计者能做出关于使用白色或有色的薄膜包衣的决定。系统现在是薄膜包衣片开发策略的组成部分，且与现有的片剂处方设计系统共用数据库。

Y

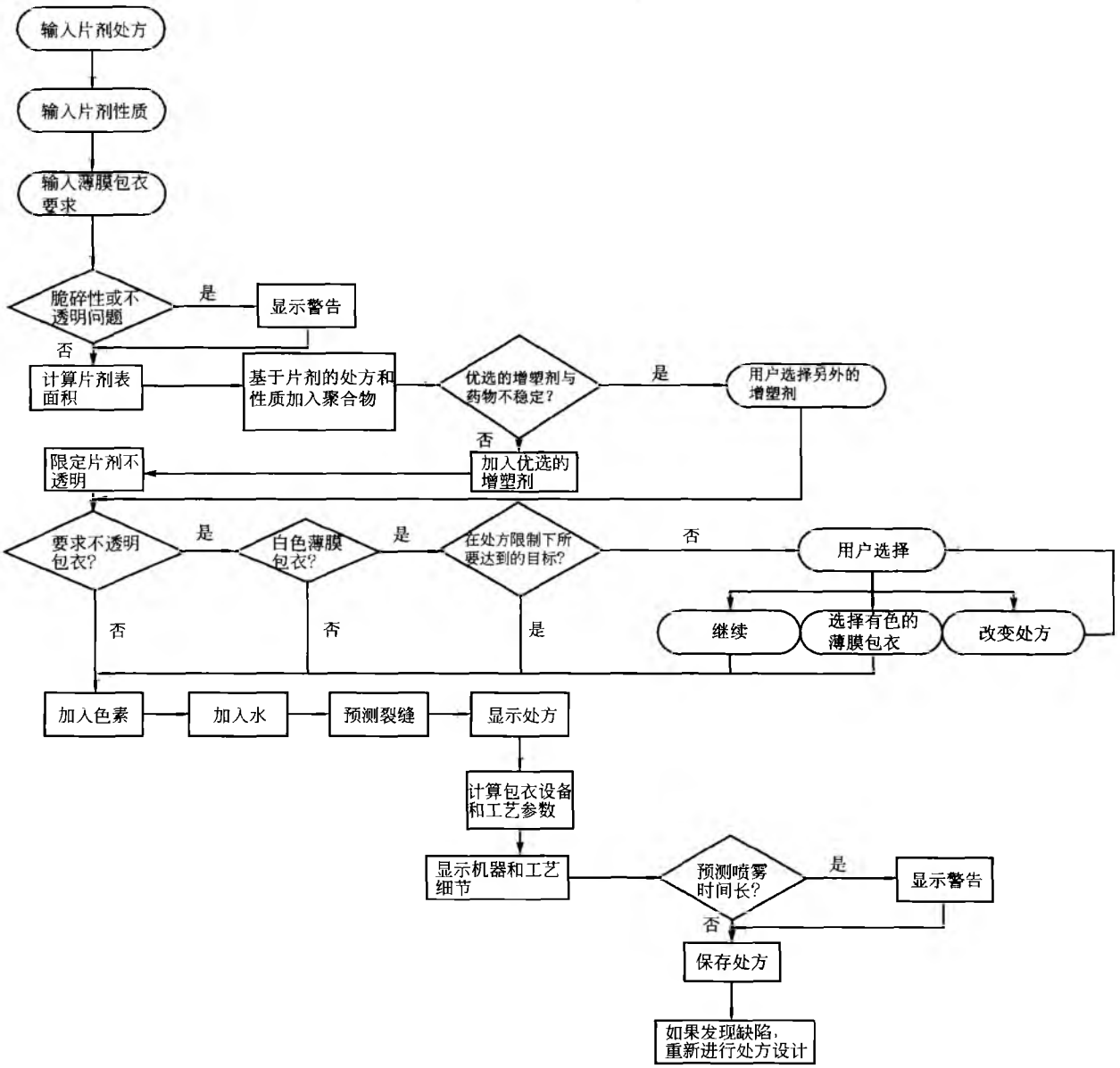


图 11 Rowe 等[27]开发的片剂薄膜包衣处方专家系统的结构图

表 9 Rowe 等所描述的系统给出的模型药物的片剂白色薄膜包衣处方的例子[27]

片剂性质（输入）	
片剂核心处方	药物 A50mg
冲头形状	正常凹面
质量/mg	230
直径/mm	8.0
厚度/mm	3.5
表面积/cm^2	1.49

续表

处方	mg/片	mg/cm^2
聚合物羟丙基甲基纤维素（6cps）	6.14	4.12
增塑剂聚乙二醇（PEG 400）	1.23	0.82
色素二氧化钛（锐钛矿）	5.63	3.78
预期薄膜性质		
厚度/μm	45	
不透明度/%	94.9	
裂缝速率/（1/ms）	5.71	

优点

专家系统有许多优点，包括如下：

(1) 知识保护与可获得性。一个连贯的、耐用的知识库的存在将不受公司职员流动的影响[20]。伦敦大学的 Capsugel 系统的开发者已报道了它的优点：能使用来自欧洲、美国、日本工业公司专家的知识[14,15]。Cadila 与 Sanofi 系统的开发者也报道了其优点：信息的快速利用、药物及辅料物理化学数据的易得，减少了花费在查文献上的时间[9,19]。

(2) 一致性。所有的系统产生了稳健的处方，增加了确定性及一致性。当法规问题很重要时，这似乎是一个显著的优点。

(3) 培训支持。所有使用的系统将为初学者和有经验的处方设计者提供培训。SOLTAN 系统的开发者已说明，有经验的处方设计者用他们的专家系统能接触一些对他们是新的、不熟悉的原料化合物。Bateman 等[19]建议用在 Sanofi 系统开发中的文档适合训练初级处方设计者。

(4) 开发速度。大量文献报道了处方设计周期可以缩短[8,9,20]。Wood[8]报道了用 SOLTAN 的处方设计者能在 20min 内设计一个处方，否则可能要花 2 天。Ramani 等[9]报道了开发一新的片剂处方所需时间减少 35%。

(5) 节省费用。减少花费不仅可以靠减少开发时间获得，还可以通过原料更有效的使用来获得，特别是当原料花费与控制包含在系统中。Ramani 等[9]报道了他们系统在计划购买与辅料的库存方面有优势。SOLTAN 的开发者报道了由系统产生的处方是有效的花费，不仅节省原料花费，而且与传统处方相比，使用辅料的种类更少。一些使用者已报道了它减少了原辅料使用数量，这是由于他们的系统仅用数据库中特有的那些材料。

(6) 解放了专家。制剂产品专家系统的运行必将让专家设计者将更多的时间花在创新上[8,20]。SOLTAN 系统的开发者报道，使用他们的专家系统一般每人每年能节省 30 天。当然，最初参加培训的有经验的处方设计者也将有更多的时间用于创新。

(7) 改善了交流。Rowe[20]报道了其公司的专家系统已提供了一个公共平台，从那讨论、管理在实际工作中的变化，并确证那些需要研究和（或）合理化的关键领域。SOLTAN 的开发者报道了使用他们的系统详细审查设计的产品处方，并强调了与理想情况的差距。他们也报道了以前所不知道的他们产品性质与辅料的关系。在促进讨论方面，专家系统的优点也由 Bateman 等[19]报道。

在所有产品处方设计的系统中，仅一个提供了费用并进行了成本-效益分析。SOLTAN 的开发者评估了他们系统的全部花费：软硬件费£10 400、咨询费£6000、专家时间费£9000，总共£25 400。在此领域，有报道每年节省的费用为£200 000，约 3 个月后就有回报。

令人感兴趣的是，将专家系统运用于制剂产品设计中，早期在潜在用户中的怀疑态度已变成积极参与的态度。专家系统不太可能代替专家处方设计者，但作为决策支持工具，它们是无价的，有许多有形及无形的优势。

结论

为了覆盖最常用的处方类型，许多制药公司及研究所开发了专家系统。本章仅讨论了在公开发表的文献中提及到的那些系统。众所周知，史克、葛兰素威康、礼莱及辉瑞也已开发相关的系统，有可能存在更多的系统，但因为大量的出版物上未公开发表，所以很难准确估计已开发的数量。

参 考 文 献

1. Bold, K. Expertensysteme Unterstutzen Bei der Produktformulierung. Chem. Ztg. 1989, 113 , 343—346.
2. Sell, P. S. Expert Systems—A Practical Introduction; Camelot Press: Basingstoke, 1985.
3. Partridge, D.; Hussein, Ch. M. Knowledge-Based Information Systems; McGraw Hill: New York, 1994.
4. Turner, J. Manufacturing Intelligence. 1991, 8, 12—14.
5. Bentley, P. Product Formulation Expert System. Intelligent Software for Product Formulation; Rowe, R. C., Roberts, R. J., Eds.; Taylor and Francis: London, 1998; 27—41.
6. Bradshaw, D. The Computer Learns from the Experts. Financial Times London April 27th 1989, 26.
7. Walko, J. Z. Turning Dalton's Theory into Practice. Innovation 1989, 18, 24.
8. Wood, M. Expert Systems Save Formulation Time. Lab-Equipment Digest Dec. 1991, 17—19.
9. Ramani, K. V.; Patel, M. R.; Patel, S. K. An Expert System for Drug Preformulation in a Pharmaceutical Company. Interfaces 1992, 22 (2), 101—108.
10. Stricker, H.; Haux, R.; Wetter, T.; Mann, G.; Oberhammer, L.; Flister, J.; Fuchs, S.; Schmelmer, V. Das Galenische Entwicklungs-System Heidelberg. Pharm. Ind. 1991, 53, 571—578.
11. Stricker, H.; Fuchs, S.; Haux, R.; Rossler, R.; Rupprecht, B.; Schmelmer, V.; Wiegel, S. Das Galenische Entwicklungs-System Heidelberg-Systematische Rezepturentwicklung. Pharm. Ind. 1994, 56, 641—647.
12. Frank, J.; Rupprecht, B.; Schmelmer, V. Knowledge-based Assistance for the Development of Drugs. IEEE Expert 1997, 12 (1), 40—48.
13. Lai, S.; Podczeck, F.; Newton, J. M.; Daumesnil, R. An Expert System for the Development of Powder Filled Hard Gelatin Capsule Formulations. Pharm. Res. 1995, 12 (9), S150.

Y

14. Lai, S.; Podczeck, F.; Newton, J. M.; Daumesnil, R. An Expert System to Aid the Development of Capsule Formulations. Tech. Eur. 1996, 8 (9), 60—68.
15. Newton, J. M.; Podczeck, F.; Lai, S.; Daumesnil, R. The Design of an Expert System to Aid the Development of Capsule Formulations. Formulation Design of Oral Dosage Forms; Hashida, M. Ed.; Yakugyo-Jiho: 1998, 236—244.
16. Carr, R. Evaluating Flow Properties of Solids. Chem. Engineer 1965, 18, 163—168.
17. Ludde, K. H.; Kawakita, D. Die Pulverkompression. Pharmazie 1996, 21, 393—403.
18. Kashihara, T.; Yoshioka, M. Assessment in Japanese Focus Group. Formulation Design of Oral Dosage Forms; Hashida, M., Ed.; Yakagyo-Jiho: 1998; 244—253.
19. Bateman, S. D.; Verlin, J.; Russo, M.; Guillot, M.; Laughlin, S. M. The Development and Validation of a Capsule Formulation Knowledge-Based System. Pharm. Technol. 1996, 20 (3), 174—184.
20. Rowe, R. C. An Expert System for the Formulation of Pharmaceutical Tablets. Manufacturing Intelligence 1993, 14, 13—15.
21. Rowe, R. C. Expert Systems in Solid Dosage Development. Pharm. Ind. 1993, 55 , 1040—1045.
22. Rowe, R. C.; Roberts, R. J. The Mechanical Properties of Powders. Advances in Pharmaceutical Sciences; Ganderton, D., Jones, T., McGinity, J., Eds.; Academic Press: New York, 1995; 7, 1—62.
23. Rowe, R. C.; Wakerly, M. G.; Roberts, R. J.; Grundy, R. U.; Upjohn, N. G. Expert System for Parenteral Development. J. Pharm. Sci. Technol. 1995, 49, 257—261.
24. Rowe, R. C.; Upjohn, N. G. An Expert System for Identifying and Solving Defects on Film-Coated Tablets. Manufacturing Intelligence 1992, 12, 12—13.
25. Rowe, R. C.; Upjohn, N. G. An Expert System for The Identification and Solution of Film Coating Defects. Pharm. Tech. Int. 1993, 5 (3), 34—38.
26. Rowe, R. C. Defects in Film Coated Tablets—Aetiology and Solution. Advances in Pharmaceutical Sciences; Ganderton, D., Jones, T., Eds.; Academic Press: New York, 1992; 6, 65—100.
27. Rowe, R. C.; Hall, J.; Roberts, R. J. Film Coating Formulation Using an Expert System. Pharm. Tech. Eur. 1998, 10 (10), 72—82.
28. Rowe, R. C. The Opacity of Tablet Film Coatings. J. Pharm. Pharmac. 1984, 36, 569—572.
29. Rowe, R. C. Quantitative Opacity Measurements on Tablet Film Coatings Containing Titanium Dioxide. Int. J. Pharm. 1984, 22, 17—23.
30. Rowe, R. C. Knowledge Representation in the Prediction of the Opacity of Tablet Film Coatings Containing Titanium Dioxide. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1995, 41, 215—218.
31. Rowe, R. C. Predicting Film Thickness on Film Coated Tablets. Int. J. Pharm. 1996, 133, 253—256.
32. Rowe, R. C.; Roberts, R. J. Simulation of Crack Propagation in Tablet Film Coatings Containing Pigments. Int. J. Pharm. 1992, 78, 49—57.
33. Rowe, R. C.; Roberts, R. J. The Effect of Some Formulation Variables on Crack Propagation in Pigmented Tablet Film Coatings Using Computer Simulation. Int. J. Pharm. 1992, 86, 49—58.
34. Rowe, R. C.; Rowe, M. D.; Roberts, R. J. Formulating Film Coatings with the Aid of Computer Simulations. Pharm. Technol. 1994, 18 (10), 132—139.

（陈满仓 译）

张力

Jaymin C. Shah
Pfizer Inc., Groton, Connecticut, U. S. A.

引言

《制剂技术百科全书》第一版第 11 卷（Vol 11，pp. 201～207，217～237）已详细讨论了大容量和小容量注射剂。但是，讨论注射剂就不能不详尽描述张力。张力是用于眼、耳和鼻等器官处敏感黏膜的制剂处方的一个重要因素。本文将首先介绍张力的生理学重要意义，接着讨论张力和依数性的物理化学基础。然后，简要综述测量和（或）计算张力的方法，以及调节张力的方法，并对每种方法举例说明。文末列出了计算张力所需的已知值。文献提供了有关张力不同方面的优秀综述，在药学专业学生的不同教科书（如 Remington 的《药学》，Martin 的《物理药学》等）中以章节的形式给出。文末的参考书目将列出这些阅读材料。

剂型是为将药物传输到体循环或人体的局部区域而设计的药物输送系统。理想的剂型应该避免药物和其他处方成分的副作用。考虑到药物的主要治疗优势，有时容许药物带来的适当风险，如用于肿瘤的化疗药物等。但是，任何源自辅料或成品制剂的副作用，即使如刺激性一样的轻微，也是不能接受和允许的。这种担忧对于突破人体的正常防御屏障传输药物的注射剂尤其重要。因此，任何与眼等器官的敏感黏膜接触的制剂都不应该由于剂型本身的原因而产生组织刺激性和疼痛。制剂引起疼痛和组织刺激性的物理化学原因之一是溶质的非生理浓度溶液与敏感组织接触。张力是一种直接影响制剂产生组织刺激性的处方性质，正如下面的例子所描述的。

如果少量去纤维蛋白的不凝结的血液与 0.9%（w/v）的氯化钠溶液混合，红细胞将保持完整，并维持它们正常的大小和形状。氯化钠可认为是等张的，实质上它与红细胞具有相同的盐浓度。相反，如果血液与 1.8%（w/v）氯化钠溶液混合，红细胞皱缩，似乎细胞的内容物被吸出。引起细胞皱缩的盐溶液就红细胞内容物而言，可认为是高张的。由于红细胞含有比周围环境 1.8%（w/v）盐溶液更低的盐浓度，红细胞中的水穿过细胞膜，稀释胞外的盐溶液，从而平衡膜两侧的盐浓度。如果血液与 0.45%（w/v）氯化钠溶液混合，就会产生相反的现象。胞外盐溶液中的水进入红细胞，引起红细胞膨胀，最终破裂，血红素释放。0.45%（w/v）盐溶液可认为是低张的，这种现象就是溶血。最近，报道了 10 例溶血偶发事件[1]，原因是患者使用了无菌水替代等张氯化钠溶液稀释的 25%人血白蛋白低张溶液，这再次验证了溶血的生理学重要意义。10 个受害者中有两个出现严重的溶血现象和有害的病理症状，其中的一个死亡[1]。另外，还发现高张和低张盐溶液会刺激眼的敏感黏膜、鼻和肌肉。但是，等张溶液与组织接触不会引起组织刺激性。红细胞在高张和低张盐溶液中发生的皱缩和溶血现象，可以由水穿过细胞膜的运动解释。半透膜的定义是仅允许溶剂透过的膜。溶剂从低浓度溶液中通过半透膜扩散到高浓度溶液的过程叫做渗透。在浓溶液侧必须施加压力阻止稀溶液中的溶剂流过膜，这个压力称为渗透压。在皱缩过程中，水从红细胞的内部扩散经过膜进入外部的高张盐溶液。当水从外部低张溶液扩散进入红细胞，引起红细胞膨胀、破裂时，就发生了溶血现象。等张溶液是一种水溶液，能产生与体液透过生物膜相同的张力或渗透压，从而阻止水向两个方向流动，因而在注射、滴注、灌注或与敏感黏膜接触时，不会产生刺激性。当溶液是高张或低张时，就会产生渗透性水流动，影响膜的紧张性。因此，处方设计者需要调节溶液的张力使之与生理溶液等张。为了调节处方的张力到等张状态，必须理解溶解的物质产生渗透压的原理以及如何调节溶液到生理液等张状态。

不同于溶液的加和及构成性质，渗透压具有依数性。简单地说，溶液的依数性就是仅依赖于溶解的或在特定的溶剂中以真溶液形式存在的非溶剂（溶质）粒子（分子/离子）的数目，不依赖溶解的非溶剂物质的特定物理化学性质如何。例如，两个非电解质溶剂 A 和 B，不论 A 和 B 的化学性质如何，当制成 0.1mol/L 溶液时，将表现出相同的渗透压。多年的实验发现，只要正确估算粒子的数目，大多数溶质的依数性确实不受溶质性质的影响，仅取决于稀溶液中游离粒子的数目。上面的陈述中隐含一个假定，溶质相对于溶剂是非挥发性的，后面的讨论将明确这一点。溶液的依数性包括蒸气压降低、沸点升高、冰点降低和渗透压。这四个特性是溶剂中溶质产生的效应，因为溶质降低了溶剂的逸出趋势，所有的依数性都与溶液的蒸气压降低有关。从处方的角度看，渗透压最为重要。但是，渗透压很难测量。由于它们都是相关的，因而可测定其他依数性，药学文献（见参考书目）和一些教科书中已介绍和深入讨论了依数性理论。由于本书的焦点是制药技术而不是理论基础，我们将只简要概述依数性理论。这些是理解调节注射剂和眼用制剂张力所必需的。

依数性的理论基础：道尔顿定律和亨利定律

道尔顿定律是指在理想溶液中，每个挥发性组分的分压等于纯组分的蒸气压乘以该组分在溶液中所占的摩尔分数。因此，对于溶液中的两个组分 A 和 B：

Z

$$P_B = P_B^0 X_B \quad (1)$$

$$P_A = P_A^0 X_A \quad (2)$$

式中：P_A 和 P_B 是溶液中组分 A 和 B 的分压；X_A 和 X_B 是摩尔浓度分数；纯组分的蒸气压分别为 P_A^0 和 P_B^0。因此，可以得出推论，B 在用 A 稀释的溶液中的蒸气压要小于其在纯组分状态下的蒸气压，反之亦然。这减少了每个组分的逸出趋势，导致 A 和 B 分子从溶液表面逸出速率的下降。该定律仅适用于理想溶液，因为理想溶液不存在组分 A 和 B 的分子间相互作用（黏附力），或两组分 A 和 B 间的相互作用与纯组分 A 及纯组分 B 的相互作用（A 和 A 间与 B 和 B 间的内聚力）相同。本质上，每个组分的分子可看成处在与在纯组分状态下的分子环境类似的环境。在无限稀释的溶液中，组分的热力学活度等于浓度。但是，真溶液不适用上述假定。当 A 和 B 间的黏附力大于纯 A 或 B 分子的内聚力时，道尔顿定律会产生负偏差，即溶液的蒸气压或每个组分的分压都要比适用理想溶液的道尔顿定律所得出的值要低。类似地，当 A 和 B 间的黏附力小于纯 A 或 B 分子的内聚力时，道尔顿定律会产生正偏差，导致蒸气压高于道尔顿定律所得出的值。道尔顿定律指出，一般而言，当组分 A 用另一组分 B 稀释时，A 的分压将降低。本质上，这是一种稀释效应。

道尔顿定律不适用于非理想的真实溶液的整个浓度范围。但是，当一个组分的量足够大，可认为是一种溶剂时，在这种稀溶液中，道尔顿定律可以表示为

$$P_{solvent} = P_{solvent}^0 X_{solvent} \quad (3)$$

该式仅适用于非理想溶液中的溶剂，在该溶液中，溶剂相对于溶质要足够稀。在稀溶液中，溶质分子完全被溶剂分子包围，溶质分子只与溶剂分子相互作用，因为溶质分子很少。进一步稀释，越过这个界限，不会改变溶质分子的环境，即使溶质分子与溶剂分子相互作用，溶质分压或热力学活度也与其摩尔分数成正比：

$$P_{solute} = K_{solute} X_{solute} \quad (4)$$

式（4）就是亨利定律，K_{solute} 是亨利定律常数，小于 P_{solute}^0。因此，亨利定律适用于稀溶液中的溶质，而道尔顿定律适用于稀的非理想溶液中的溶剂。注意式（1）和式（2）间的相似性，以及稀的非理想溶液情况下的式（3）和式（4）的相似性。在理想溶液中，亨利定律与道尔顿定律是相同的，K_{solute} 等于 P_{solute}^0。当溶质和溶剂的分压在整个范围内直接与其摩尔分数成正比时，溶液即为理想溶液。在非理想溶液中，道尔顿定律适用于整个浓度范围的溶剂，而亨利定律适用于一定浓度范围的溶质，即溶质以足够稀的形式存在。

当非挥发性溶质溶解在溶剂中，溶剂在溶液中的分压等于溶液的蒸气压。因为溶剂的摩尔分数 $X_{solvent} = 1 - X_{solute}$，对于稀溶液中摩尔分数为 X_{solute} 的非挥发性溶质，式（3）可改写为

$$P_{solution} - P_{solvent} = P_{solvent}^0 (1 - X_{solute}) \quad (5)$$

因此，从道尔顿定律和亨利定律中得出的重要结论是由蒸气压得到的溶剂的热力学活度仅与溶质的摩尔分数组成成正比，而与溶质的物理或化学性质无关。因此，溶剂在溶液中的蒸气压仅依赖于溶解溶质的粒子（分子/离子）数目，而与溶质在溶液中的质量浓度无关。因此，在稀溶液中遵循亨利定律的溶剂蒸气压，这是溶液的一种依数性。已发现亨利定律适用于摩尔分数为 0.1 的非电解质类型溶质；但是，由于上面强调的离子间作用力的远程性，电解质类型溶质的适用范围要小得多。离子间作用力的影响将在下文评论。

依数性

道尔顿定律是依数性的理论基础。当加入到溶液的溶质的量增加时，亨利定律设定了道尔顿定律对溶液依数性的适用范围。正如上面强调的，依数性是溶液中溶解粒子数目影响的结果，与溶剂从溶液中的逸出趋势相关。

四个非常重要的依数性是：①蒸气压降低；②沸点升高；③冰点降低；④渗透压。下面将尝试定性和定量描述溶液的每个依数性，并强调它们之间的相互关系以及在后面测量和调节溶液张力（尤其对于注射剂）中的应用。基于热力学理论的推导可以用于解释溶液的每个依数性是如何获得并彼此相关的，有关物理化学的理论推导参考教科书。

1. 蒸气压降低

将非挥发性溶质加入到溶剂中，由于溶剂的热力学活度减少，会导致溶剂的蒸气压降低。同时，因为溶质是非挥发性的，溶剂的蒸气压就是溶液的蒸气压，见式（5）。可以认为，从每单位溶液表面逸出的溶剂分子数目要少于纯溶剂的，因为溶质分子替代了表面的溶剂分子，溶液每单位表面积的溶剂分子减少了。但是，这些溶质分子不影响气相中动能不足的溶剂分子的液化。结果减少了表面溶剂分子的逸出趋势，引起蒸气压下降，因而降低了蒸发速率。随之发生的蒸气压降低（$P_{solvent}^0 - P_{solution}$）和相对蒸气压降低，是溶质摩尔分数的函数，可以通过重组式（5）和式（6）获得

$$\frac{P_{solvent}^0 - P_{solution}}{P_{solvent}^0} = \frac{\Delta P}{P_{solvent}^0} = X_{solute} \quad (6)$$

等式左边是相对蒸气压降低值，仅取决于于单一溶质的摩尔分数和溶液中每种溶质的摩尔分数总和。因此，不论它们的物化性质怎样，由相对蒸气压降低值可以直接得到溶质的粒子总数。将摩尔分数转化成质量摩尔浓度（每 1000g 溶剂中溶质的毫摩尔数），以水为溶剂得出了下式：

$$\frac{\Delta P}{P_{solvent}^0} = X_{solute} \approx \frac{m M_{solvent}}{1000} = 0.018m \quad (7)$$

式中：m 是摩尔浓度表示的溶质浓度；$M_{solvent}$ 是克表示的溶剂摩尔质量。对于水，$M=18$，由于水的相对密度接近 1，对于稀的水溶液，质量摩尔浓度和体积摩尔浓度（mol/L）可以互换使用。式（7）可用于根据非电解质溶质的摩尔浓度计算相对蒸气压降低值。

2. 沸点上升

液体的沸点是指液体的蒸气压开始等于作用于液体的外部压力（760mmHg，一个大气压）时的温度。因此，非挥发性溶质的溶液沸点要高于纯溶剂，因为根据道尔顿定律，溶质减少了溶液中溶剂的蒸气压。溶液必须加热到更高的温度以达到使溶剂沸腾所需的相同蒸气压。沸点的升高值（$T_{solution}-T_b^*$）与基于 Clausius-Clapeyron 方程的相对蒸气压降低值成正比，由此得出了用质量摩尔浓度表示的等式，如下：

$$(T_{solution}-T_b^*)=\delta T_b=\Delta T_b=K\Delta P=K_b m \quad (8)$$

式中：K_b 为质量摩尔升高常数或沸点升高常数，是溶剂的一种特性常数，表示每千克溶剂含 1 摩尔非挥发性溶质的理想溶液沸点上升值。K_b 可以通过测量几个质量摩尔浓度溶液的 dT_b/m，然后外推 dT_b/m 到质量摩尔浓度为零获得。水的 K_b 值为 $0.515K\cdot kg^{-1}\cdot mol$。通过测量溶液中溶剂的沸点上升值和已知的该溶剂的 K_b 值，可以计算出溶液的摩尔浓度。从式（8）可以得出，与蒸气压降低一样，沸点上升也是一种依数性，因为它严格取决于溶质的质量摩尔浓度或溶质粒子的数目，因此，与溶质的理化性质无关。

3. 冰点降低

液体的冰点或固态纯物质的熔点是指在 1atm 下固相和液相平衡的温度。化合物的相图将纯物质的冰点描述为一个独特的点。在那一点，固相和液相处于平衡态，液相的蒸气压与纯固相的蒸气压相同。因为相对于纯溶剂，溶液中溶剂的蒸气压降低了。在纯溶剂固相和液相的平衡温度下，即冰点不会发生冻结（或结晶），蒸气压较低的相是热力学更稳定的相。因此，在纯溶剂的冰点以下冷却溶液，导致纯固相的蒸气压要比溶液相的低得多，当两相的蒸气压最终相等时，纯液体溶剂冻结（结晶）。溶解的溶质减少了结晶溶剂分子的逸出趋势，因此必须降低温度重建固相和液相的平衡，从而降低冰点。必须注意，凝固和溶解在冰点建立平衡溶解的溶质仅影响液相的凝结，而不会改变分子离开固相的趋势。同时，溶剂形成纯固体；如果溶质与溶剂同时结晶，这种现象比较复杂，不能用依数性描述。溶液的浓度越高，冰点降低得越多，应用热力学原理、道尔顿定律和 Clausius-Clapeyron 方程，用质量摩尔浓度表示溶质浓度，建立的关系如下：

$$(T_{solution}-T_f^*)=\delta T_f=\Delta T_f=K\Delta P=K_f m \quad (9)$$

式中：K_f 称为质量摩尔降低常数或冰点下降常数，是溶剂的特征常数，取决于溶剂的理化性质，表示每千克溶剂含 1 摩尔非挥发性溶质的理想溶液冰点降低值。K_f 可以通过测量几个质量摩尔浓度溶液的 dT_f/m，然后外推 dT_f/m 到质量摩尔浓度为零获得。水的 K_f 值为 $1.868K\cdot kg^{-1}\cdot mol$。通过测量溶液中溶剂的冰点降低值和已知的该溶剂的 K_f 值，可以计算出溶液的摩尔浓度。从式（9）可以看出，冰点降低是一种依数性，因为它与溶质的质量摩尔浓度或溶质粒子的数目成正比，而与溶质的理化性质无关。

4. 渗透压

如前言所述，溶剂从低浓度溶液扩散经过半透膜进入高浓度溶液的过程叫做渗透。这导致在膜的高浓度溶液侧产生流体静压。在半透膜的高浓度溶液侧施加压力，可以阻止溶剂的扩散。在浓溶液侧施加的压力需与渗透产生的流体静压相等。这个压力就是渗透压，与理想溶液的浓度成正比。半透膜仅允许溶剂分子通过，如果不是半透膜，就不能观察到渗透现象，因为溶质将迅速扩散经过膜，平衡膜两侧的浓度。

渗透趋于平衡半透膜两侧溶剂逸出的趋势。逸出趋势可以以溶液中溶质分压的方式测定。另外，可以看到，最初溶液和纯溶剂具有不同的溶剂热力学活度，因为它们具有不同的蒸气压。而半透膜两侧的溶液和纯溶剂要想达到平衡，应具有相同的逸出趋势或相同的蒸气压，因而具有相同的热力学活度。因此，通过产生渗透压能够建立平衡。渗透压可以补偿膜两侧溶剂浓度的差异。膜两侧的溶剂浓度差异是蒸气压、逸出趋势和热力学活度不同的原因。因此，渗透是一个到达平衡状态的过程，溶剂自发地从膜的高自由能（低蒸气压）侧流向膜的低自由能（高蒸气压）侧，直到膜两侧的溶剂自由能相等。很明显，溶质将不能达到平衡，因为它不能通过半透膜扩散。渗透压可归因于溶液中溶剂蒸气压的不同，因而它也具有一种依数性，下面将进行解释。

应用热力学理论，同时考虑到溶剂的自由能是蒸气压的函数，当半透膜将溶液同纯溶剂分隔时所产生的渗透压（Π），与蒸气压的关系如下：

$$\Pi=\frac{RT}{V_{solvent}^M}\ln\frac{P_{solvent}^\circ}{P_{solution}} \quad (10)$$

式中：R 是气体常数；T 是温度；$V_{solvent}^M$ 是分摩尔体积（1mol 溶剂所占的体积）；Π 是当半透膜将蒸气压为 $P_{solution}$ 的溶液与蒸气压为 $P_{solvent}^\circ$ 的溶剂分隔所产生的渗透压。应用道尔顿定律，并用摩尔分数替代蒸气压，将式（5）代入式（10），结果如下：

$$\Pi=\frac{-RT}{V_{solvent}^M}\ln(1-X_{solute})\approx\frac{RT}{V_{solvent}^M}X_{solute} \quad (11)$$

因为 $\ln(1-X_{solute})\approx -X_{solute}$，在稀溶液中，$X_{solute}$ 近似等于摩尔比值 $n_{solute}/n_{solvent}$，式（11）转化为：

$$\Pi=\frac{n_{solute}}{n_{solvent}V_{solvent}^M}RT=\frac{n_{solute}}{V_{solvtion}}=mRT \quad (12)$$

式中：溶剂的摩尔数乘以分摩尔体积等于溶液中溶剂的体积。在稀溶液中，溶剂的体积可近似看成溶液的体积，这使上式将渗透压与溶液中溶质的摩尔或质量摩尔浓度建立联系。式（12）叫做 Morse 表达式，证明了渗透压是一种依数性，仅与溶剂中溶解的粒子数目成正比，而与溶质的性质无关。Van't Hoff 很早就认识到渗透压、溶质浓度和温度之间的正比关系，并提出它们之间是一种与理想气体方程类似的关系，如下：

$$\Pi V_{solution}=n_{solute}RT \quad (13)$$

式（13）类似于理想气体方程。van't Hoff 得出结论，如果溶质像气体一样占据一定体积，那么稀溶液的渗透压是溶质所施加的一种压力。式（13）也可以表示为：

$$\Pi = \frac{n_{solute}}{V_{solution}}RT = cRT \qquad (14)$$

这说明渗透压与摩尔浓度表示的溶质浓度成正比。该式与 Morse 表达式［式（12）］相似；但是，理论和实验均表明当溶质浓度以质量摩尔浓度表示，而不是摩尔浓度表示时，可获得更精确的结果。虽然式（13）与理想气体方程有惊人的相似之处，渗透压是膜两侧溶剂的逸出趋势不同的结果，而不是由于溶质具有类似气体的行为。

由式（12）～（14）可以得出，任何溶质的 1 摩尔溶液将产生高得令人难以置信的渗透压，在室温下近 24atm，已经过实验证实。上述估计是基于溶液是稀的理想溶液的假定，对于高浓度的溶质，理论值将超过实验观测值。上面主要讨论产生渗透压的热力学基础；但是，它不能解决多快达到平衡或多快产生渗透压的问题。产生渗透压的速率是一个动力学过程，在很大程度上取决于半透膜的性质。红细胞膜或眼黏膜非常薄且潮湿，水可以非常迅速地扩散经过膜产生巨大的渗透压。但是，对于合成和半合成聚合膜，渗透压的产生可能很缓慢。经过这些膜的扩散是非常缓慢的。

与非电解质溶质相比，电解质的依数性

根据定义，依数性应该不依赖溶质的性质。因此，0.1 质量摩尔乳糖和氯化钠溶液应表现出相似的依数性。van't Hoff 观测到，乳糖等非电解质稀溶液的依数性可以用以上的式子很好地表示。但是，如盐类等强电解质溶液产生的渗透压，是根据式（14）计算出的两倍或三倍，这取决于研究的电解质。为了解释这种反常现象，van't Hoff 提出了式（14）的修正式，如下：

$$\Pi = icRT \qquad (15)$$

式中：i 可看作是解释电解质和非电解质浓溶液偏离适用于理想溶液的道尔顿定律的因子。自 Arrhennius 提出了盐电离或解离成离子的理论后，van't Hoff 等发现，i 值接近或等于溶液进一步稀释时电解质或分子解离成离子的数目。例如，稀的 0.1mol/L 氯化钠溶剂的渗透压是 0.1mol/L 乳糖溶液的两倍，NaCl 的 i 值为 2。类似地，0.1mol/L $CaCl_2$ 和 $MgCl_2$ 溶液将产生三倍于 0.1mol/L 乳糖溶液的渗透压，两者的 i 值等于 3。因此，i 值反映了电解质解离成离子的数目，基于电解质解离成的离子数目，等摩尔浓度的电解质在产生渗透压方面更为有效。但是，发现中等浓度电解质的渗透压要小于根据完全解离得到的预计值。事实上，这曾使科技界提出部分解离，甚至对于强电解质也是如此，并使用依数性作为一种解离程度的测量手段。但是，我们现在知道根据电导率等测量技术，强电解质即使在浓溶液中也是完全解离的。中等浓度电解质的渗透压要低于其预计值，是由于远程离子相互作用的影响。随着溶液浓度的增大，该作用开始产生主要影响。道尔顿定律的基本假设是溶质粒子之间没有相互作用，即使有也应该与溶质和溶剂之间的作用力相等。但是，随着电解质溶液浓度的不断增大，相反电荷离子的强吸引力在溶液中占据优势，相对于在无限稀溶液中的情况，离子的热力学活度降低了。同时，结果表明溶液的离子强度效应影响了电解质的活度，因此，似乎是离子间作用力而不是部分解离，导致电解质的依数性要低于根据完全解离得到的预计值。

所有溶质的所有依数性用 van't Hoff 因子 i 修正，表达式如下：

$$\Delta P = iP^0_{solvent}m;\Pi = iRTm$$
$$\Delta T_f = iK_f m;\Delta T_b = iK_b m \qquad (16)$$

式中：非电解质的 i 值为 1，强电解质的 i 值等于解离形成的离子数目。例如，NaCl 的 i 值为 2，$CaCl_2$ 为 3，$FeCl_3$ 为 4。但是，事实上 i 值要小于根据浓溶液产生的离子数目计算所得的值，但是在无限稀的理想溶液中将接近理论值。当计算一些溶液的 i 值时，不断增大溶质的浓度，然后外推到零浓度，可以获得理论 i 值。van't Hoff i 因子也可看成非电解质真溶液的任一依数性与理想溶液的该依数性的比值。

张力在生理学和临床上的重要意义

从生理学的观点看，渗透压很重要，因为大多数的生物膜是半透膜，如血液和眼泪等的体液由于其中溶解了许多溶质，具有明显的渗透压。正如引言中所述，如果少量血液与 0.9%（w/v）NaCl 溶液混合，红细胞保持完整，并维持它们正常的大小和形状。NaCl 溶液可认为是等张的，因为它能维持红细胞膜的张力。相反，如果血液与 1.8%（w/v）NaCl 高张溶液混合，细胞由于内容物被吸出而发生皱缩。由于红细胞内容物产生的渗透压要低于周围 1.8%（w/v）的高渗盐溶液，细胞内的水扩散通过细胞膜稀释周围的盐溶液，以平衡膜两侧的渗透压。如果血液与 0.45%（w/v）NaCl 溶液混合，就会出现相反的现象。水从周围盐溶液进入细胞，引起细胞膨胀，最终破裂，释放出血红素，这种现象就叫做溶血。红细胞在高张和低张盐溶液中分别出现皱缩和溶血现象，可以用渗透压差异引起水透过细胞膜的移动来解释。但是，众所周知，不同生物膜具有不同的通透性。已发现红细胞膜能够透过少量极性和中极性溶质，如乙醇、硼酸和尿素等。因此，红细胞不是真正的半透膜。虽然 2%硼酸溶液与红细胞内容物等张，但它会引起溶血，因为硼酸能够自由通过细胞膜。硼酸溶液是低张的，就像纯水对红细胞的作用。但是，相同的 2%硼酸溶液对于眼分泌物既是等渗又是等张的，滴入眼内不会引起刺激性，因为眼黏膜是真正的半透膜。为了解决生物膜不同通透性导致的混乱，人们创造了等张这个词。等张是指对于特定膜溶液与细胞内容物等渗并维持膜紧张性。此外，维持膜的紧张性，即没有溶剂透过膜。因此，2%硼

酸溶液与血液是等渗的，但是它对红细胞是低张的，而对眼黏膜同时是等渗且等张的。

人们还观察到当高张和低张盐溶液应用于眼、耳和鼻等黏膜时有刺激敏感组织从而引起疼痛的倾向，而等渗溶液与组织接触时不会引起组织刺激性。很明显，与血液、肌肉、眼、鼻和敏感组织接触处方的张力是很关键的。因此，张力问题对于小容量和大容量注射剂、眼用产品及组织刺激性产品是很重要的。组织刺激性或溶血或皱缩的程度取决于偏离等渗的程度、注射的量、注射的速度、注射剂中溶质的浓度以及膜的性质。因此，注射剂和眼用制剂应尽可能调节到等渗。通过加入葡萄糖或氯化钠（通常用于此目的）等溶质，低张溶液可以很容易调节到等张。但是，有时处方可能是高张的，必须用水稀释达到等张。而药物的水溶性差等限制妨碍了高张溶液的稀释。在这种情况下，高张溶液可以少量缓慢注入如锁骨下静脉等大静脉。制剂在大静脉内稀释并迅速分散，减少了注射产生的红细胞皱缩、疼痛和刺激组织的机会。已发现如10%等较小程度偏离等张可能对注射部位没有影响或只有短暂影响。但是，大量注射液偏离等张产生的影响是非常严重的，因此，注射用营养溶液和大体积滴注液需要调节到等张。已发现大容量低张溶液的输入会引起从溶血到如癫疯和肺水肿等水潴留问题。最近报道的10起溶血事件就是很好的例子，两个患者出现严重的溶血和肾功能不全，其中一人死亡。发生这些严重的溶血事件是因为25%的人血白蛋白大体积注射液用无菌水替代等张氯化钠进行稀释，用于血浆置换疗法[1]。相反，滴注大容量高张溶液会导致如细胞脱水、渗透性利尿、高血糖、糖尿、水损耗过多引起的脱水和昏迷。同时，高张溶液的输入应逐渐停止，以避免渗透压的突然改变。总之，任何与人体敏感组织接触的处方都需要调节到等张，以减少不良反应。为了能够调节处方到等张，必须使用一种测量处方张力和（或）渗透压的方法。关于测量溶液的张力或渗透压的方法，简要综述如下。

溶液张力的测量

测量张力的最直接方法是观测溶液与血液混合时红细胞的变化。如果溶血或皱缩或红细胞外观发生明显变化，溶液就是非等张的。如果细胞保持正常的大小和形状，溶液是等张的。Grosicki 和 Husa 很早就使用这种方法，但是，必须注意溶液与红细胞内容物等渗，却引起溶血的情况。因为如硼酸等溶质可以透过红细胞膜，因而溶液是非等张的[2]。因此，Grosicki 和 Husa 建议等张这个词是指溶液就一种特定膜而言具有相等的渗透压[2]。因为低张溶液引起的溶血导致的氧合血红蛋白的释放直接与溶血细胞的数目成正比，已发展了一种定量方法计算渗透压和上述的 van't Hoff *i* 因子。观察红细胞变化作为张力测量方法是有局限性的：溶质与细胞的特殊化学相互作用、溶液的 pH 值、溶剂的存在、溶质的脂溶性和溶质的变性剂活性都可能会对细胞膜产生影响，因此，仅渗透压差异不是溶血的全部原因。近来发现溶血除制剂的低张外，还与接触时间有关[3]。为了克服这个局限性，一些研究者已使用测量红细胞体积的方法，将红细胞体积作为溶液张力的函数，因该溶液张力影响溶剂（水）的摄取或从红细胞丢失。这种方法比观测溶血的方法更为敏感、客观和可靠。近来，一种使用荧光各向异性测量红细胞膜流动性的方法显示了低张和等张溶液间的差异[4]。但是，该方法需要得到更多的数据以建立张力和膜流动性之间的可靠关系。

另一种方法基于前面描述的依数性理论基础。如果溶液与血液等张，它的渗透压、蒸气压、沸点升高和冰点降低也应与血液的相等。因此，为了测定等张，必须测量溶液的渗透压，并同血液的已知值比较。但是，精确测定渗透压是困难和复杂的。如果用真正的半透膜将溶液和血液分隔，溶剂流动（朝向）引起的压力是可以精确测定的，但是溶剂流动会稀释溶液，因而不知道溶质的浓度。一个替代方法是在膜的溶液侧施加压力以阻止渗透性溶剂流动。在1877年，Pfeffer 使用这种方法测量了蔗糖溶液的渗透压。随着技术的进步，敏感的压力换能器和合成聚合膜可以改善这种方法。但是，真正半透膜的研究结果仍然是不明朗的，这种方法依然麻烦而不便。这种方法已成功应用于蛋白质的胶体溶液测定其分子量，因为蛋白质的分子量较大，不能透过膜。现已有多种商品化渗透压计可用于测量渗透压[5,6]，而只有 Knauer 膜渗透压计和胶体渗透压计是真正使用半透膜的渗透压计[5]。如 Wescor 等蒸气压渗透压计使用蒸气压降低原理，不应叫做渗透压计。这些仪器或使用等压方法测量蒸气压，或热电法，或对照标准溶液测量未知溶液的露点，然后利用依数性理论计算渗透压和质量摩尔渗透压浓度。这些仪器需要数微升样品，该方法是相当精确、简单并全自动的。如果存在如乙醇等挥发性溶剂，使用这种方法会出现问题，因为该法假定气相中只存在水。这是一个很大的局限性，因为许多注射剂和眼用制剂含有增溶药物（有时是为提高稳定性）的有机溶剂。此类商品化渗透压计在100～3000mmol/kg 范围内测量渗透压是可靠的。

沸点升高法仅利用回流冷凝器和温度计也可用于测量渗透压和溶液张力。已商品化仪器是 Cottrell 沸点装置。但是，这种方法会受周围大气压和溶液中挥发性溶剂的影响。

依据冰点降低的渗透压计由于其简单、可靠和使用方便，是使用最广和最常见的测量张力的仪器。已测定了许多药物溶液在不同浓度下的冰点降低值，因此，已有详尽的数据库用于调节这些药物溶液的张力，如下所述。使用盐-冰浴、杜瓦瓶（真空瓶）和 Beckmann 温度计可简单地测定溶液的冰点降低。多数应用 Beckmann 冰点原理的商品化仪器需要少量溶液，如来自 Precision Systems 的 Osmette。这种方法的问题是冰的分离真实的平衡冰点的测定。可以通过使用平衡方法克服后者的缺陷。平衡法将固体溶剂（冰）与溶液（水溶液）接触，测定冰点，并与纯溶剂（水）和固体溶剂（冰）接触测得的冰点比较。同时，必须考虑其他溶剂存在对冰点降低的影响。冰点降低方法

如此精确，以致±0.0002℃范围内的差异都可被检测出来。冰点渗透压计可用于所有渗透压小于 550mmol/kg 的样品，包括那些含有挥发性溶质的样品[6]。如果已知溶液的冰点，加入如氯化钠等惰性溶质，就能使其冰点等于血液和泪液的冰点。经过大量的讨论和实验后，沿袭 Lund 等的研究工作[7]，确定血液和泪液的冰点为－0.52℃。这也是 0.9%氯化钠溶液的冰点，因此 0.9%氯化钠溶液可认为与血液和泪液等张。因此，为了测定溶液的张力，必须测定其冰点降低值，并与血液的冰点（－0.52℃）比较。表 1 列出了许多药物的冰点降低值。各种药物更多的冰点降低值参考 *Merck Index*、Remington 的《药学》和其他百科全书列出的文献资料。使用这种方法的主要顾虑是虽然溶液中所有溶质都与冰点降低有关，那些透过生物膜的溶质不会产生张力，如硼酸。此外，还必须考虑如络合和胶束缔合等过程造成的溶质分子聚集。这些过程具有温度依赖性。黏度和悬浮粒子也可通过改变溶剂的结晶影响冰点。尽管如此，冰点降低法由于其简单、可靠和有商业化仪器，已变得盛行。最近，有文章综述了渗透压测定法、测定技术和每种方法自身的局限性[5,6]，可从中了解更多细节。

表 1 一些药物和辅料的冰点降低值（$T_f^{1\%}$），L_{iso}值和氯化钠等渗当量（E）[9]1)

物质	MW2)	$T_f^{1\%}$3)	L_{iso}4)	E5)	V6)
无水乙醇	46.07	0.41	1.9	0.70	23.3
氨茶碱	456.46	0.10	4.6	0.17	5.7
硫酸苯丙胺	368.49	0.13	4.8	0.22	7.3
安替比林	188.22	0.10	1.9	0.17	5.7
盐酸安他唑啉	301.81	0.11	3.2	0.18	6.0
盐酸阿扑吗啡	312.79	0.08	2.6	0.14	4.7
维生素 C	176.12	0.11	1.9	0.18	6.0
硫酸阿托品	694.82	0.07	5.3	0.13	4.3
盐酸金霉素	544	0.06	3.5	0.11	3.7
巴比妥钠	206.18	0.29	3.5	0.29	10.0
盐酸苯海拉明	291.81	0.34	3.4	0.20	6.6
硼酸	61.84	0.29	1.8	0.50	16.7
硫酸布他卡因	710.95	0.12	8.4	0.20	6.7
咖啡因	194.19	0.05	0.9	0.08	2.7
葡萄糖酸钙	448.39	0.09	4.2	0.16	5.3
乳酸钙	308.30	0.14	4.2	0.23	7.7
樟脑	152.23	0.12	1.8	0.20	6.7
氯霉素	323.14	0.06	1.9	0.10	3.3
三氯叔丁醇	177.47	0.14	2.5	0.24	8.0
盐酸可卡因	339.81	0.09	3.2	0.16	5.3
葡萄糖-H_2O	198.17	0.09	1.9	0.16	5.3
盐酸狄布卡因	379.92	0.08	2.9	0.13	4.3
盐酸麻黄碱	201.69	0.18	3.6	0.30	10.0
硫酸麻黄碱	428.54	0.14	5.8	0.23	7.7
重酒石酸肾上腺素	333.29	0.11	3.5	0.18	6.0
盐酸肾上腺素	219.66	0.17	3.7	0.29	9.7
荧光素钠	376	0.18	6.9	0.31	10.3
丙三醇	92.09	0.20	1.8	0.34	11.3
氢溴酸后马托品	356.26	0.10	3.6	0.17	5.7
乳糖	360.31	0.04	1.7	0.07	2.3
硫酸镁·$7H_2O$	246.50	0.10	2.5	0.17	5.7
薄荷脑	156.26	0.12	1.8	0.20	6.7
盐酸哌替啶	283.79	0.12	3.7	0.22	7.3
盐酸脱氧麻黄碱	185.69	0.22	4.0	0.37	12.3
盐酸吗啡	375.84	0.09	3.3	0.15	5.0
硫酸吗啡	758.82	0.08	6.2	0.14	4.8
盐酸萘甲唑啉	246.73	0.16	3.3	0.27	7.7
硫酸新霉素	—	0.06	—	0.11	3.7
溴新斯的明	303.20	0.11	3.2	0.22	6.0
烟酰胺	122.13	0.15	1.9	0.26	8.7
青霉素 G 钾	372.47	0.11	3.9	0.18	6.0
普鲁卡因青霉素 G	588.71	0.06	3.5	0.10	3.3
青霉素 G 钠	356.38	0.11	3.8	0.18	6.0
盐酸芬那卡因	352.85	0.11	3.3	0.20	5.3
苯巴比妥钠	254.22	0.14	3.6	0.24	8.0
苯酚	94.11	0.20	1.9	0.35	11.7
盐酸去氧肾上腺素	203.67	0.18	3.5	0.32	9.7
水杨酸毒扁豆碱	413.46	0.09	3.9	0.16	5.3
硫酸毒扁豆碱	648.45	0.08	5.0	0.13	4.3
硝酸毛果芸香碱	271.27	0.14	3.7	0.23	7.7
磷酸二氢钾	136.13	0.25	3.4	0.43	14.2
氯化钾	74.55	0.45	3.3	0.76	25.3
碘化钾	166.02	0.20	3.3	0.34	11.3
盐酸普鲁卡因	272.77	0.12	3.4	0.21	7.0
盐酸奎宁	396.91	0.08	3.3	0.14	4.7
氢溴酸东莨菪碱	438.32	0.07	3.1	0.12	4.0
硝酸银	169.89	0.19	3.3	0.33	11.0

续表

物质	MW[2]	$T_f^{1\%}$[3]	L_{iso}[4]	E[5]	V[6]
磷酸二氢钠·H_2O	138.00	0.24	3.2	0.40	13.3
苯甲酸钠	144.11	0.24	3.4	0.40	13.3
碳酸氢钠	84.00	0.38	3.2	0.65	21.7
亚硫酸钠	104.07	0.36	3.7	0.61	20.3
硼砂·$10H_2O$	381.43	0.25	9.4	0.42	14.0
氯化钠	58.45	0.58	3.4	1.00	33.3
碘化钠	149.92	0.23	3.4	0.39	13.0
硝酸钠	85.01	0.39	3.4	0.68	22.7
无水磷酸钠	141.98	0.31	4.4	0.53	17.7
磷酸钠·$2H_2O$	178.05	0.25	4.4	0.42	14.0
磷酸钠·$7H_2O$	268.08	0.17	4.6	0.29	9.7
磷酸钠·$12H_2O$	358.21	0.13	4.6	0.22	7.3
丙酸钠	96.07	0.36	3.4	0.61	20.3
干燥亚硫酸钠	126.06	0.38	4.8	0.65	21.7
硫酸链霉素	1457.44	0.04	6.0	0.07	2.3
强蛋白银	—	0.0	—	0.08	2.7
蔗糖	342.30	0.05	1.6	0.08	2.7
磺胺醋酰钠	254.25	0.14	3.4	0.23	7.7
磺胺嘧啶钠	272.27	0.14	3.8	0.24	8.0
磺胺甲嘧啶钠	286.29	0.14	3.9	0.23	7.7
磺胺	172.21	0.13	2.2	0.22	7.3
磺胺噻唑钠	304.33	0.13	3.9	0.22	7.3
盐酸丁卡因	300.82	0.11	3.2	0.18	6.0
盐酸四环素	480.92	0.08	4.0	0.14	4.7
盐酸苯吡二胺	291.83	0.17	3.8	0.30	7.3
尿素	60.06	0.35	2.1	0.59	19.7
氯化锌	139.29	0.37	5.1	0.62	20.3
硫酸锌·$7H_2O$	287.56	0.09	2.5	0.15	5.0

1）值会随浓度变化，表中列出的大多数是1%～3%浓度的溶液。更详细的E值和T_f值表格见参考文献[8]。

2）MW是药物的相对分子质量。

3）$T_f^{1\%}$是1%药物溶液的冰点降低值。

4）L_{iso}是与血浆和泪液近似等张的药物浓度的冰点降低值。

5）E值是药物的氯化钠等渗当量。

6）V是通过加水到0.3g药物（1液量盎司1%溶液所需的药物质量）制得的等张溶液的微升体积。

根据依数性理论和渗透压测定原理，渗透压计读出的是质量摩尔渗透压浓度，而不是体积摩尔渗透压浓度，因为依数性与质量摩尔浓度表示的总溶质浓度成正比[见式(1)～(16)]。质量摩尔渗透压浓度和体积摩尔渗透压浓度之间的关系及其重要性可在Remington的《药学》和Deardorff[10]的综述文章中找到。但是，使用体积摩尔渗透压浓度更为方便，因为体积摩尔渗透压浓度是根据质量/体积，而不是质量摩尔渗透压浓度中的质量/质量。美国药典也建议注射剂和眼用制剂的标签应列出体积摩尔渗透压浓度，虽然实验测定的量是质量摩尔渗透压浓度。通过测定溶液密度和溶质含量[11,12]或使用溶质和溶剂分摩尔体积，将质量摩尔渗透压浓度转化为体积摩尔渗透压浓度的方法，已有描述[13,14]。

使用L_{iso}值计算张力的理论方法

在上面有关电解质依数性的讨论中，引入了van't Hoff i因子，修正式见式(16)。电离程度和离子间相互作用的程度不同，导致强电解质和弱电解质的冰点降低往往要比根据式(9)计算所得的值多得多。因此引入了一个新因子$L=iK_f$。L值从用摩尔浓度(c)表示的与血液等张的特定类型电解质溶液的冰点降低值获得，定义为L_{iso}（L_{iso}=0.52℃）。例如，等张氯化钠溶液（0.9%w/v）的L_{iso}值为3.4，其冰点降低值为0.52℃。因为依数性不依赖于电解质的化学性质，稀溶液的离子间相互作用是相似的，相同类型的所有电解质将具有相同的L_{iso}值。因此，所有非电解质的L_{iso}=1.9，而单价电解质的L_{iso}=3.4，三价电解质的L_{iso}=6.0。因此，如果已知溶质的离子性质及其相对分子质量，使用恰当的L_{iso}值就可以计算一定浓度溶液的冰点降低值。所有类型溶质的平均L_{iso}值可从文献中得到[9]。这种方法简单，不需要实验，但是只是近似值，可能存在一些误差。同时，必须知道溶质的离子性质，而这对于具有复杂结构的新药化合物是很难的。

调节张力的方法

根据上述的理论背景，应用依数性原理可以很容易地设计出调节溶液张力的方法。但是，在药房实践中，积累了许多根据临时情况调节处方张力的简单方法以帮助药剂师调节处方张力。调节张力的方法可分为两类。在Ⅰ类方法中，将一些如氯化钠或葡萄糖等惰性物质加入到溶液，降低其冰点，使之与血液的冰点(－0.52℃)一致，即通过加入惰性辅料实现等张。在Ⅱ类方法中，将一定计量的水加入到处方的总溶质（药物）使之等张，然后用足够的等张稀释溶液稀释到最终体积。下面将解释这些方法并辅助以简单例证。但是，需要仔细考虑所有方法固有的假设。第一个假设是混合溶质的依数性具有加和性，并与用摩尔浓度质量摩尔浓度或百分数表示的溶质浓度线性相关。这种假设对于非电解质和电解质稀溶液是正确的。但是，对于浓溶液，这种假设可能是不成立的。在溶液中溶质存在化学作用、缔合或胶束作用的情况下，溶质的依数性可能不具有加和性。第二个假设是溶液中出现的所有溶质对溶液的张力都有影响。但是，由此从上面的讨论可知所有生物膜不是真正的半透膜，因此，一些可以透过膜的溶质不会形成溶液的张力，例如，硼酸可以透过红细胞膜。但是，引入的误差很小，微小（正或负）偏离等张不会产生严重的不良反应。在文献中，也可以找到称为L值法或L_{iso}法的方法。这些方法与上述的溶质理论方法是一致的。根据相

Z

对分子质量和离子性质，用这些方法可以计算出冰点降低值。已知冰点降低值，任何Ⅰ类或Ⅱ类方法都可用于调节溶液到等张。

1. Ⅰ类方法

1.1 冰点降低法（冰点法）

文献[8，9，15]给出了许多药物和辅料的冰点降低值，这些数据或通过上述方法进行实验测定，或使用 L_{iso} 法进行理论计算得到。表1（摘自参考文献[9]）列出了1%的各种药物溶液的冰点降低值。基本上根据溶液中药物的百分含量，就可以计算溶液的冰点。然后，血液的冰点（−0.52℃）减去溶液的冰点得到通过加入氯化钠获得的冰点降低值。已知0.9%氯化钠溶液是等张的，在−0.52℃结冰，按下面的例子近似加入的氯化钠量。

例1 计算制备100mL 2%等张水杨酸毒扁豆碱溶液所需的氯化钠量。

2%水杨酸毒扁豆碱溶液的冰点降低值＝2×0.09℃＝0.18℃（表1）。因此，加入氯化钠所达到的冰点降低值＝0.52℃−0.18℃＝0.34℃。氯化钠（0.9%）产生的冰点降低值为0.52℃，因此，所需氯化钠的百分含量＝（0.34℃/0.52℃）×0.9%＝0.59%＝0.59g/100mL。

1.2 氯化钠当量（E）法

氯化钠当量（E）是指1g药物产生的渗透作用相当于氯化钠的量。新药的 E 值可以根据其 L_{iso} 值或冰点降低值计算。

1g/L新药溶液的冰点降低值的表达式如下：

$$\Delta T_f = L_{iso}\frac{1g}{MW} \tag{17}$$

根据定义，1 L溶液中 E 克氯化钠（MW＝58.45和 L_{iso}＝3.4）具有相同的冰点降低值，表示如下：

$$\Delta T_f = 3.4\times\frac{Eg}{58.45} \tag{18}$$

因此，使式（17）等于式（18），导出下式：

$$E = 17\frac{L_{iso}}{MW} \tag{19}$$

Wells根据上面的等式发展了一种计算图，可以容易地依据药物的 MW 和 L_{iso} 值计算 E 值[16]。因此，使用单价电解质的 L_{iso}＝3.4计算得到的水杨酸毒扁豆碱（MW＝413.46）E 值等于0.14，接近表1中的0.16（E 值）。小偏差是由水杨酸毒扁豆碱的实验测定 L_{iso} 值（3.9）与单价电解质的理论值3.4之间的差异引起的。已知 E 值，可以调节溶液到等张，如下所示。

例2 计算制备100mL 2%等张水杨酸毒扁豆碱溶液所需的氯化钠量。

水杨酸毒扁豆碱（2g/100mL）等价于2×0.16（E）＝0.32g/100mL的氯化钠。因此，为了实现等张，必须加入0.58g（0.9g−0.32g）氯化钠。注意两种方法给出的答案是不同的，但非常接近。

2. Ⅱ类方法

Ⅱ类方法包括计算配制一定量药物的等张溶液所需的水，接着用等张溶液稀释补足体积。这些方法的出现是为了使药剂师能够简单方便地配制注射剂和眼用制剂。

2.1 White-Vincent 法

在该法中，首先，药物的质量（w）乘以其氯化钠当量（E）得到每克药物的氯化钠渗透当量[17]。因为100mL中溶有0.9g氯化钠形成等张溶液，每克药物制备的等张溶液的体积，计算公式如下：

$$V = wE\frac{100}{0.9} = 111.1wE \tag{20}$$

因此，每克药物用 V mL水溶解，将得到等张溶液，进一步用如0.9%氯化钠等张溶液或等张葡萄糖溶液稀释以补足体积。举例如下。

例3 制备100mL与血液等张的2%水杨酸毒扁豆碱溶液。

使用式（20）和表1中水杨酸毒扁豆碱的 E＝0.16，制备等张溶液所需的水的体积 V＝2g×0.16×111.1mL/g＝35.55mL。用64.45mL的任一等张溶液稀释该溶液将得到100mL 2%水杨酸毒扁豆碱等张溶液。为了验证结果，如果假定用64.45mL的等张氯化钠溶液稀释上述溶液，加入的氯化钠当量为0.58g，这与使用Ⅰ类方法得到的结果一致。

2.2 Sprowls 法

在药房实践的早期，许多处方要求制成1液量盎司1%药物溶液，因此，药物量（w=0.3g）和最终体积是固定的（1液量盎司或30mL）。Sprowls发现了这个事实，建议用White-Vincent法的修正式进一步简化执业药剂师的计算[18]。在该法中，药物量固定为0.3g（30mL 1%溶液），使用式（20）和如表1第4栏等表格列出的注射剂和眼用制剂常用药物（已知这些药物的氯化钠当量）的值，计算制备等张溶液所需的水的体积。然后，药剂师用等张稀释溶液补足制剂的体积到30mL。例如，如果制备1液量盎司1%水杨酸毒扁豆碱溶液，根据表1第4栏，0.3g水杨酸毒扁豆碱需要5.3mL水制备等张溶液。制备5.3mL溶液后，可以用任何等张稀释溶液补足体积到1液量盎司。如果需要制备100mL1%溶液，水的体积（V）乘以3.33得到等张所需水的量。

未来方向

依数性理论已为大家所熟知并成功应用于注射剂，使之等张，从而安全、可接受。人们改进了渗透压测定技术，现在已经能够买到在数分钟内测定数微升样品的冰点降低值、蒸气压或渗透压的仪器。同时，很少药剂师需要调配处方，需要掌握调节张力的不同方法的知识。由于新药物

实体不断增长的结构复杂性，水溶性差的问题越来越突出，如环孢菌素 A 和紫杉醇等。已开发了许多有机溶剂和新表面活性剂用于增溶，用于这些药物的注射剂处方。从这个角度讲，必须强调张力问题，因为有机溶剂和表面活性剂在溶液中的行为不同于那些已知的传统溶质。同时，如纳米粒、脂质体和微乳等分散体系已开发作为注射剂，也需要研究这些体系的依数性。有关注射部位的组织刺激性和肌肉损伤的越来越受到关注。随着生物技术的出现，更多的多肽和蛋白药物进入到临床试验。同时，人们正考虑将基因疗法用于疾病治疗。为了维持这些新药高级结构的完整性，它们的注射处方更为复杂。因此，需要从不同的角度使用更新的方法重新讨论张力的问题。

参考文献

1. Morbidity & Mortality Weekly Report 1999, 48 (8), 157－159.
2. Grosicki, T. S.; Husa, W. J. J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 1954, 43, 632－636.
3. Krzyzaniak, J. E.; Raymond, D. M.; Yalkowsky, S. H. PDA J. Pharm. Sci. Tech. 1996, 50 (4), 223－226.
4. Au, K. S. Biochem. Mol. Bio. Int. 1994, 32, 49－53.
5. Bevan, D. R. Anesthesia 1978, 33, 794－800.
6. Sweeney, T. E.; Beuchat, C. A. Am. J. Physio. 1993, 264, R469－480.
7. Lund, C. G.; Nielsen, P.; Pedersen-Bjergaard, K. The Preparation of Solutions Iso-Osmotic with Blood, Tears, and Tissue; Danish Pharmacopeia Commission: Einar Munksgaard Copenhagen, 1947; 2.
8. Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., Kinneary, J. F., Eds. The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12th Ed.; Merck & Co. Inc.: Whitehouse Station NJ, 1996; 47－57, MISC.
9. Martin, A.; Bustamante, P.; Chun, A. H. C. Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles. The Pharmaceutical Sciences; Lea & Febiger: Philadelphia, 1993; 101, 142, 169－189.
10. Deardorff, D. L. Am. J. Hosp. Pharm. 1980, 37, 504－509.
11. Murty, S. R.; Kapoor, J. N.; DeLuca, P. P. Am. J. Hosp. Pharm. 1976, 33, 546－551.
12. Gatlin, L.; Kulkarni, P.; Hussain, A.; DeLuca, P. P. Am. J. Hosp. Pharm. 1979, 36, 1357－1361.
13. Streng, W. H.; Huber, H. E.; Carstensen, J. T. J. Pharm. Sci. 1978, 67, 384－386.
14. Huber, H. E.; Streng, W. H.; Tan, H. G. H. J. Pharm. Sci. 1979, 68, 1028－1032.
15. Siegel, F. P. Tonicity, Osmoticity, Osmolality and Osmolarity. Remington's Pharmaceutical Sciences; Gennaro, A. R., Chase, G. D., Marderosian, A. D., Harvey, S. C., Hussar, D. A., Medwick, T., Rippie, E. G., Schwartz, J. B., Zink, G. L., Eds.; Mack Printing Co.: Easton Pennsylvania, 1990; 1481－1498.
16. Wells, J. M. J. Am. Pharm. Assoc. Prac. Ed. 1944, 5, 99－106.
17. White, A. I.; Vincent, H. C. J. Am. Pharm. Assoc. Prac. Ed. 1947, 8, 406－411.
18. Sprowls, J. B. J. Am. Pharm. Assoc., Prac. Ed. 1949, 10, 348－352.

进一步阅读

Flynn, G. L. J. Parenteral Drug Assoc. 1979, 33, 292－314.
Hadzija, B. W. Am. J. Pharm. Ed. 1995, 59, 191－195.

（金玉琼　译）

Z 蒸发与蒸发器

David P. Kessler
Purdue University, West Lafayette, Indiana, U.S.A.

引言

通常来说，蒸发是指一种组分从液相转变为气相。气化，有时候可以和蒸发互换使用，特别指一种液体完全转化为气体（蒸气）。

本章只使用“蒸发”这个术语，将蒸发定义为在按惯例归类为蒸发器的处理设备中进行的过程。这就意味着没有设备的蒸发过程，如太阳光照下的池塘和油罐的挥发，在此就忽略不提。

蒸发器用于提高溶液或浆液（液体）中溶解或混悬的相对不易挥发组分的浓度，利用某种介质提供的能量蒸发掉部分液体，这种介质通常是蒸气。溶解或混悬组分没有大量出现在蒸气相中（如果有的话，这个过程就称为蒸馏）。

其他也能用于提高浓度的方法（无论有没有蒸发过程）有反渗透法、离子交换法、透析法、电渗析法、渗透蒸馏法，以及那些运用流化床、冷却塔或者喷雾干燥的方法，在此不做讨论。

在大多数蒸发器中，溶剂或者混悬相主要或完全是一种成分，通常是水。蒸发过程的主产物可以是剩下的浓缩程度更大的混合物，也可以是上部蒸气（通常随后冷凝，但并非必须）。

溶剂回收过程上部溶剂蒸气以及发电厂使用的沸水蒸气是两类典型的蒸气产品。Blowdown这个词用来指生产蒸气产品时周期性或持续性地冲洗底部，从而控制液相中不想要物质的聚集[1]。

当残留的液相进一步浓缩时，有些蒸发过程中会出现结晶。进一步蒸发下去，蒸发就变成了干燥（或脱水，如果除去的组分是水），这时底部的产品主要是固态而非液态。

蒸发器的典型应用

历史上，典型的蒸发过程的例子是食盐的生产。生产枫糖浆的传统方法是从树液中蒸发获取。浓缩在制浆与造纸过程中形成的黑色浆液，需要使用大容积的蒸发器。蒸发器还用于以下几个方面，如海水的脱盐、核燃料重处理[1]、放射性废物处理[2,3]、蒸馏水的制备以及氢氧化钠的生产[2]。它还用来浓缩发酵过程中的釜馏物残渣、废盐卤、化肥生产中的无机盐以及金属抛光工艺中的漂洗用水。它还用于生产糖、维生素C、苛性钠、染料和果汁浓缩物，以及用于制药过程中的溶剂回收。

蒸发器的种类

可以找到大量有关蒸发器的类型（包括照片和示意图）、设计和操作的论述[4~6]。

由于液相蒸发通常需要大量热能，因此将这些热能传递到液相的方法占据了蒸发器的主要成本。蒸发器的热源通常是一种介质，如热燃气或者压力蒸气，代表性的是水蒸气。熔盐和电阻加热器是较少用的提供热能的方式。

快速蒸发器通过对预先加热的液体进行减压蒸发。这一方法最早用于生产轮船上的饮用水，现在更广泛地用于处理盐水和海水以及加工液体[7]。

碟式或阶式蒸发器，将相对旋转轴垂直安装的碟子或平行安装的管道部分浸没，从而将液体薄膜带入热蒸气流[8]。

将传热介质的能量传递到液体的最有效的方法是直接注入传热介质。但是由于随之而来的传热介质对液体的污染问题，这种方法在制药工业中不太常用，在此不做讨论。

药品生产中更有效的方法是在传热介质和液体之间插入热导材料制成的固体墙。这种方式能保持液体的洁净，但会降低传热的效果。固体墙通常由金属制成，但可用一些材料涂层，如瓷釉、搪瓷或者聚合物。玻璃或陶瓷也可作为墙壁的材料。

固体墙也可以是蒸发器自身的外壁，如夹层蒸发器。但夹层蒸发器传热的有效面积相当有限。套管容器内通常还加入内部搅拌器。

热传递可由容器内的加热线圈提供，但仍存在有效热传递面积不够大的弊端。但这种线圈可以设计成便于拆除和清洗的形式。另一个方法是在蒸发器主室外进行热交换。

有些应用使用了板式热交换器。在板式热交换器中，热交换的表面可以是板-框构造（传热介质和液体流过交替的平行板间隙），或采用具有同心螺旋通道对的螺旋-板构造[7]。这种热交换器容易清洗，但需要密封的面积很大。图1是一个典型的板式蒸发器。

最常见的分隔传热介质和液体表面的几何形状很可能是管束形。管束可以是垂直或水平定向，液体在管外或管内流过。根据应用的需要，管束可以置于蒸发器主室的内部或外部。

蒸发器的加热元件有时也称为“排式管”。这个术语通常用于这样的加热系统，即液体通过传热介质围绕的垂直管束上升，然后从中央井下降流出。

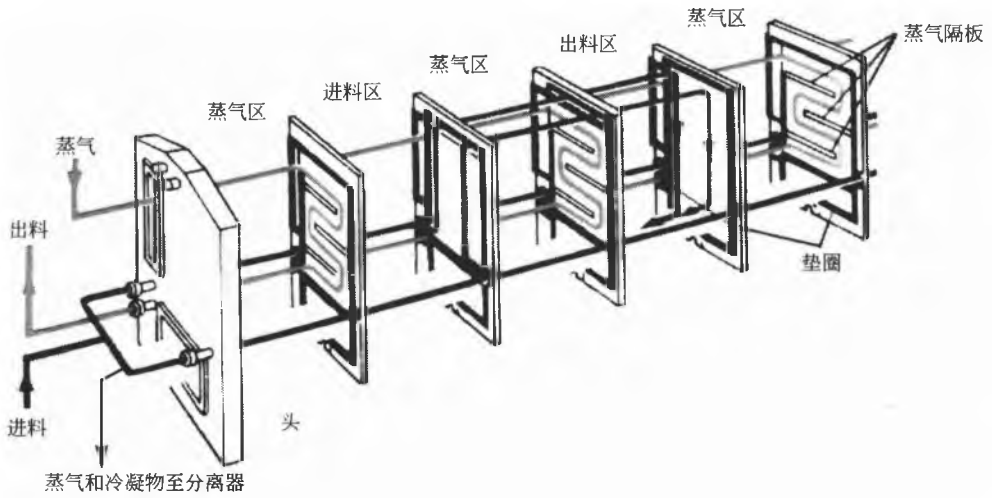


图 1　升/降膜板式蒸发器的剖面图（经 APV Crepaco 公司许可）

短管垂直蒸发器是一种较早的类型，至今仍大量应用于工业。加热元件是环绕中央井的垂直管束，有时候俗称为笼。循环采用升膜模式，向上通过管子，然后向下通过中央井或下降管。液体在管中沸腾，减少了总体密度，因而产生了循环的驱动力。因为向下流的（未沸腾）液体的密度要比管中液体的大。

这种设备的机械清洁相对容易，资金投资相对较低。但是，如果热输入中断，循环停止，可能会出现悬浮在液体上面的任何固体沉积的危险。这种类型的单元不适用于黏稠的液体，因为传热系数低同自然对流的速度低有关[8]。其他类型的蒸发器已超越了短管垂直蒸发器，尤其对于会起泡的液体。

长管垂直蒸发器通常是每单位容量最便宜的蒸发器[8]。当采用升膜模式操作时，管内的温度变动明显且难以预测。管内的压力变化，从底部的高压到顶部的低压意味着液体进入管子底部时是低于其沸点的。随后当液体上升时受到加热而沸腾，同时液体的沸点随着接近管子顶部压力的下降而下降（假定由于浓度增加而引起的沸点上升与压力下降引起的沸点下降相比可以忽略）。

采用降膜模式操作长管蒸发器，可以缓和压差引起的温度变动问题。此时，环绕气流的液膜沿着管壁流下，压力的降低要大大低于升膜模式。降膜单元的停留时间很短，因此十分适用于热敏感性物质，但是必须要在管壁上维持一层膜使得投料分布问题难以解决。这种模式非常适应清洁操作。也可以从市场上买到一个设备内同时具有升膜部分和降膜部分的蒸发器。

强制循环蒸发器具有较高的传热系数，并且不易结垢。这些优势被循环机器所需的外部能量消耗和相对较高的液体滞留所抵消[8]。由于循环液体的作用，沉积物不时从设备的管壁上剥离下来引起堵塞。使用泵可能会产生一些机械问题，尤其当液体是浆体的时候。

在适度的低温差下，防止液体表面发生沉淀所需的液体流速通常要大于自然循环所需的流速[9]。除了能够减少结垢，强制循环还能提高传热系数。

有一种方法可以提高黏稠液体的热传递，即通过搅动临近管壁的液体来提高热传递系数，如搅拌膜式或刮板膜式蒸发器。安装用来搅拌近壁液体的机械装置需要相当大直径的管子，所以这些装置往往只由一根管子组成，因而热传递面积相对较小。引进可移动的机械部分可能会导致维护问题。

在横管蒸发器中，液体通常位于管子的外侧而加热介质位于内侧。沸腾的液体不时喷洒在管子的外壁，而不是浸没整个管子。其性能接近降膜式蒸发器[8]。

蒸发器还可以在不同的压力下操作[9]。压力的下降伴随着沸点的降低，尤其适用于热敏性物料和对空气敏感的物料。

蒸发操作通常叠加为多效系统[1]，以获得更好的蒸发效率。这种蒸发器具有不同的液体和蒸汽相对流向。多效蒸发器的典型例子可见图 2 和图 3。

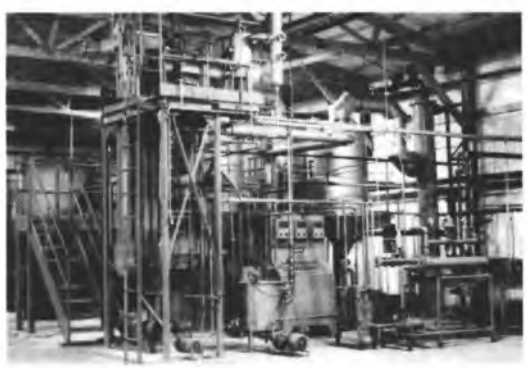


图 2　双效升/降膜板式蒸发器（经 APV Crepaco 公司许可）

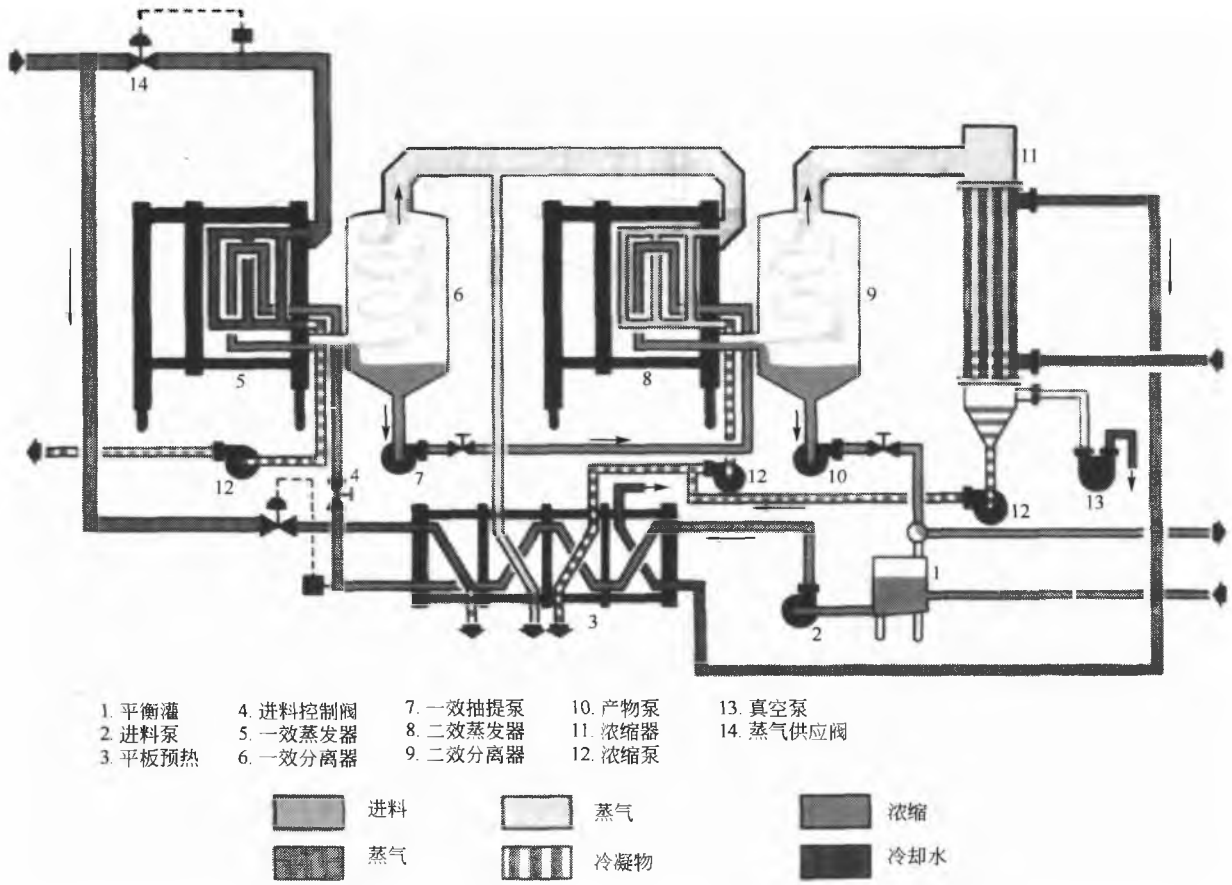


图 3 双效升/降膜板式蒸发器流程图（经 APV Crepaco 公司许可）

有文献详细讨论了各种蒸发器的优缺点[8]，也有表格总结了常用蒸发器的优缺点[10]。

大多数蒸发器从供应商处定制或在线定制，因此供应商是选择蒸发器类型信息的绝好来源。供应商和联系方式可参见文献[11，12]。

蒸发器的设计

已有大量关于设计基本的和复杂的蒸发器的出版物[1,2,7~9,13~18]。读者可以参考这些出版物及其参考书目获得更详细的知识。

蒸气加热型蒸发器的效率通常根据蒸气效率衡量，定义为每消耗 1lb 蒸气蒸发的溶剂磅数[7]。

设计蒸发器很重要的一个概念是沸点上升。沸点上升，定义为相同压力下液体和纯水之间沸腾温度的差值，通常伴随着液体浓度的增大。

Dühring 坐标图是以纯水的沸点为横坐标、液体的沸点为纵坐标，以固定浓度线作为参数来绘图。对于一种特定的化学物质，Dühring 坐标图是唯一的。有一本专论总结了许多无机盐溶液的沸点上升情况[19]，同时也提供了根据经验或其他热力学性质预测沸点上升的信息[9]。

批量操作过程中，蒸发器中液体的组分不断改变。大批量操作没有明显的动能和势能变化，蒸发器中液体组成的系统能量平衡表明，转换成为上方蒸气热焓的速度和蒸发器内液体内能变化的速度之和必须等于外加热能的速度：

$$\hat{H}_{ov}\dot{w}+\frac{d(\hat{U}M)}{dt}=\dot{Q} \qquad (1)$$

式中：$\hat{H}_{ov}$表示上部蒸气的热焓（能量/质量）；$\dot{w}$表示上部蒸气的流量（质量/时间）；$\hat{U}$表示液体的内能（能量/质量）；M表示液体的质量（质量）；$\dot{Q}$表示热量的输入速度（能量/时间）；t表示时间（时间）。

应该建立一个方程来估计蒸气焓和溶液内能与浓度的关系。

上部蒸气的焓值通常不随时间而改变（除了由于沸点上升导致的热能微小波动），但热能的输入速率可能会随时间而改变，因为表面变化会引起总传热系数的变化（见下文），且沸点上升会引起液体与传热介质之间温差的明显改变。在参考文献中可以找到计算批量蒸发的简单例子[14]。提到的方程与支配批量蒸馏的相似。

许多蒸发器都是在基本稳态条件下操作的（虽然传热系数会随时间缓慢变化，因为盐析、沉淀等上文提过的原

因会造成表面改变）。设计一台用于稳态操作的蒸发器通常从确定处理物料的流量率和需要的浓度改变开始。这些信息可用于质量守恒，然后通过能量守恒计算所需的传热速率。

对于一个蒸发体系，有液体投料、上部蒸气和底部液体产品以及浓缩组分 A：

系统质量守恒：

$$W^{(\text{投料量})}=W^{(\text{上空蒸气})}+W^{(\text{底部液体})} \tag{2}$$

物质质量守恒：

$$W^{(\text{投料量})}x_{\text{A}}{}^{(\text{投料量})}=W^{(\text{上空蒸气})}x_{\text{A}}{}^{(\text{上空蒸气})}+W^{(\text{底部液体})}x_{\text{A}}{}^{(\text{底部液体})} \tag{3}$$

式中：W 表示流量（质量/时间）；x 表示物质 A 的质量浓度（物质 A 的质量/总质量）。

通常，投料流量和浓度是一定的，上部和底部的浓度也是如此（上部浓度通常为零）。解含有两个未知数的两组方程可以得到未知上部和底部流量。

然后，所需的传热速率可以从稳态能量平衡中计算得到，假定势能和动能的变化可以忽略并且没有外界做功（当然对于蒸气再压缩型蒸发器来说，后者是不正确的）。

$$\dot{Q}=\dot{W}^{(\text{上空蒸气})}\hat{H}^{(\text{上空蒸气})}+\dot{W}^{(\text{底部液体})}\hat{H}^{(\text{底部液体})}-\dot{W}^{(\text{进料})}\hat{H}^{(\text{进料})} \tag{4}$$

式中：Q 表示传入系统的热传递速率（能量/时间）；$\dot{W}$ 表示流量（质量/时间）；$\hat{H}$ 表示焓（能量/质量）。

在上面的方程中，质量流量可以根据质量守恒计算得到。必须根据热力学数据计算焓，这需要蒸气的温度和（或）压力的数值，同时还需要最初指定的浓度。

热传递速率的计算结果不能决定所需的热传递面积或者构造。首先根据处理的液体凭经验选择结构（管状、板状等）。

一旦选定了交换器的结构，通常要计算所需的热交换面积。根据总系数与特定表面配对的原则，通过使用综合各种热传递形式的总传热系数计算。

$$\dot{Q}=UA\Delta T \tag{5}$$

式中：U 表示总传热系数，需要与特定表面匹配（能量/时间×长度^2×温度）；A 表示热量流过的特定表面积（例如管子的外表面积或管子的内表面积）（长度^2）；ΔT 表示传热介质与液体（通常是游离蒸气或者总液体温度）之间的温差。

总热传递系数取决于传热介质的特性和气流模式、液体的特性和流动方式、分隔介质和液体的固体表面的特性，以及分隔固体表面两边沉积物的性质。

通常，热量可以通过三种机制传递：传导、对流和辐射[20]。对于蒸发器，较重要的机制是液体和介质之间的对流以及热流通过分隔两者的固体进行传导。

为了计算上述方程中的总传热系数，传热介质和液体的热传递性质用它们各自的传热系数描述，而分隔两者的固体的热传递性质由热导系数描述。界面上的沉积物，其热传导性能并不通过热导率表示，而是通过污垢（热传递）系数或“污垢因子”描述（其值通常定义为 1000/[污垢系数]）。

对流传热分系数由下面的方程定义：

$$\dot{Q}=hA\Delta T \tag{6}$$

式中：h 表示传热分系数（能量/时间×长度^2×温度）；A 表示接受热流的特定表面积，通常是最初与液体接触的无污垢表面的面积，在面积随热传导路径而改变的情况下（如管子），必须指明系数是针对哪部分面积，如内壁、外壁（长度^2）；ΔT 表示特定的温度差，通常是指游离蒸气或总液体温度同界面之间的温差（温度）。

通过传导进行的热传递速度可以用导热性描述：

$$\dot{Q}=kA_{\text{avg}}\Delta T\Delta x \tag{7}$$

式中：k 表示固体的热导率（能量/时间×长度×温度）；A_{avg} 表示发生热传递的平均面积，如同心圆柱的对数平均面积（长度^2）；ΔT 表示固体两边外表面之间的温差（温度）；Δx 表示适合热流（长度）的固体厚度。

可以将总传热系数拆分为以下几个部分：

$$\frac{1}{U_{\text{炉}}A_{\text{炉}}}=\frac{1}{h_{\text{介质}}A_{\text{介质}}}+\frac{1}{h_{\text{污垢,介质}}A_{\text{污垢,介质}}}+\frac{x}{kA_{\text{平均,固体}}}+\frac{1}{h_{\text{污垢,液体}}A_{\text{污垢,液体}}}+\frac{1}{h_{\text{液体}}A_{\text{液体}}} \tag{8}$$

总传热系数可以通过计算上面方程中的各个部分求得。当知道整体的温度下降值后，就可以计算出所需的面积。上述方法已有了进一步的发展[5]。

介质和液体的传热分系数可以从液体的性质和系统速度场的关系计算得到[20,25]。其他信息可以从美国机械工程师协会丛书中查到[26]。在其他出版物上还可以查到关于预测水平/垂直管内外蒸发膜传热分系数的详细研究结果和参考书目[21,22,24~27]。

热传递的限制性因素通常是来自液体本身和（或）液体侧形成的沉积物引起的热阻（上述方程中的最后两项）。传热介质侧的传热系数通常用于冷凝，因而明显大于液体侧用于沸腾的传热系数。管壁的热阻通常很小（但对于积聚在管壁上的沉积物来说并非如此）。

沉积物在管壁的沸腾侧积聚通常要比冷凝侧多。要测定表面上有大量沉积物的系统的传热系数，必须获得该系统的有关实验数据。

对热敏感的产品可能会分解成为不溶性成分，沉积在表面并阻碍热传递。例如，一些水溶性蛋白，加热时会转化为一种不溶性成分[18]。腐蚀会导致管壁的热传递性质发生改变。

根据液体所含材料的物理化学性质，液体可以在管内侧或管外侧。考虑因素包括从热交换表面清除沉积物的方便性、所使用液体的热传递特性，以及进行有效热传递或防止污垢沉积所需的流动速度。一种用于快速设计和选择蒸发器的标准和资料表格可加以有效利用[10]。

自动循环蒸发器的总传热系数为 1.1～3.4kW/(m^2 ·

K) = 200～600 Btu/(h·ft²·F) (1Btu=1.055 06×10³J，下同)，强制循环的总传热系数为 11 kW/(m²·K) = 2000Btu/(h·ft²·F)。搅拌膜蒸发器中，黏度接近于水的牛顿流体可获得的传热系数为 2.3kW/(m²·K) = 400Btu/(h·ft²·F)。当黏度增加到 10N·s/m² = 10 000cP 时，传热系数下降至 0.7kW/(m²·K) = 120Btu/(h·ft²·F)。可参考文献[1，8，10，28]获得更多的蒸发器总传热系数。

传热介质的温度必须要比液体高，随之产生的温度驱动力必须足够大，这样热传递就不需要过大的面积。在一定温度下，增加传热介质温度驱动力的一个方法是降低液体侧的压力以降低沸腾温度。这是蒸发器的常用装置，通常由蒸气喷射装置实施。文献中[29]有这种装置的设计（和费用）的详细资料。

如果上部蒸气是水并且加热介质是水蒸气，所产生的蒸汽在质和量上通常可以同加热蒸气相比，但压力更低，因为加热蒸气的温度（因而压力）通常要比液体高，这样才能为热传递提供足够的温度驱动力。是否要补偿蒸气产生的潜热是一个合乎逻辑的问题。

蒸气冷凝的温度通常不足以提供足够的温差，以确保热量传递给液体（除了一小部分新来液体的显热）。但压缩蒸气可以提高它的温度和冷凝温度，从而使蒸气将其蒸发热/冷凝热传递给液体，结果充分利用了热能。

遗憾的是，完成压缩所需要的机械能是高效的（因而是昂贵的），但产生的热能是低效的。热压缩或机械压缩可以提供所需要的机械能。热压缩是由蒸气喷射器（喷射器的设计和费用可见参考文献[29]）产生的高压蒸汽来完成的，而机械压缩通常是由离心压气机完成的。

另一个方案是将蒸发过程分为不同的阶段（在不同的容器中），通常称为“效”，液体的流向可以是同向的、反向的，或同蒸汽的流向一致[1,9]。按这种方案操作，在合适的温度驱动力下，特定效产生的蒸汽通常用来煮沸液体到一个不同的效果。多效蒸发器在蒸汽上节省下的费用可用来增加设备上的资金投入。

Pennink[30]发现在 50 000lb/h 系统的最佳选择通常是分为 3 或 4 效，而很大的系统可以分为 7～8 效。Ramakrishna[31]详细介绍了一种简便方法，用于估算多效蒸发器的最佳效数。Ulrich[10]也给出了一种设计多效蒸发器的简单算法。在 Schilt[15]的著作中可以看到一个计算实例。Cole[18]给出了有和没有蒸汽喷射热压缩装置的单效和多效蒸发器蒸发 1 吨水的蒸汽消耗量和最小蒸发速率以及蒸汽机械再压缩费用的数据。

对于那些想要获得更详细设计资料的人，可参见 Azbel 的书获得一些热交换器机械设计的基础知识[9]，同时他的书中还介绍了建造热交换器的可选材料。关于蒸发的广泛讨论以及蒸发器安全/环保方面的问题，可以参考美国环境保护机构的报告[32]。该文档就将蒸发器用于处理金属抛光工业中的废水的失败案例进行了分析。其他有用的参考资料，具有广泛的参考书目，如 Rubin 等[33]、Knudsen 等[34]、Chisholm[35]和 Taborek 等[36]。美国机械工程师协会的系列丛书，如 Shah[37]所撰写的，提供了另外的信息。

蒸发器的相关费用

同其他任何仪器一样，蒸发器的两项主要费用是设备投资和运行费用。估算蒸发器系统安装费用的最好方法，当然是根据卖主的报价。但是，根据 Peters 和 Timmerhaus[38]所说，安装费用还可以根据热交换器的表面积估算。从出版物上查到的参考价格还必须根据出版时间做出相应的调整。可以使用索引来达到这一目的，如 Marshall 和 Swift all-industry 索引。该索引值每月刊登在 McGraw-Hill 出版社出版的《化学工程》上。从 Peters 和 Timmerhaus[38]、Ulrich[10]索引上可以获得有关使用这些和其他价格索引及其历史记录的进一步信息，也可以从 Ulrich[10]索引上查到要购置的蒸发器所用材料消耗及压力变化的信息。

已有人编制了一张估计热压缩喷射器价格的图表[29]。也可以找到机械性再压缩蒸汽的压缩器的参考价格[38～40]。此外，这些出版物还包括了热交换器的参考价格。想要了解更详细的管壳式热交换器的参考价格，见 Purohit 的报道[41～43]。可用 Kumana 的报道[44]估计板框式和螺旋板式热交换器的价格。

运行费用可以根据已出版的方法进行估算。这些方法仅用于初步的费用估计。一些事项如原材料、操作劳力、动力消耗、管理费用、维修费用等，根据具体的生产程序可能会差异很大。

蒸发器的操作和控制

许多有关操作和控制特定蒸发系统的问题会因具体的应用而不同。但是所有的系统都需要解决以下问题：如何来评估系统性能；如何安排好周期性煮沸；如何测定和控制变量，如温度、压力、液位、液体流速、组分构成等；如何快速和有效地发现蒸发器运行的故障[45,46]。

美国化学工程师协会曾经出版了蒸发器测试指南[47]。美国仪器协会也发行了一本蒸发器操作和控制指南[2]，其中包括了如采用最佳煮沸之类的操作技巧，详细介绍了仪器的使用，包括变量、测量方法的选择以及包含数字技术的控制系统的设计和执行。这部著作既有章节文献目录又有总文献目录。

合理运行蒸发器减少生产成本，包括安排去除污垢或沉积物的清洗周期。减少成本需要在增加蒸发效率和停产时间之间平衡。停产不仅涉及清洁的费用，还包括了排空和再填充的费用。优化的关键在于能描述积垢形成随时间演化的函数。

参考文献

1. Gupta, J. P. Evaporators and Vaporizers. Fundamentals of Heat Exchanger and Pressure Vessel Technology; Hemisphere: Washington, 1986; 187—211.

2. Nisenfeld, A. E. Industrial Evaporators: Principles of Operation and Control; Instrument Society of America: Research Triangle Park, NC, 1985.
3. Anthony, D. Improved Evaporators for Radioactive Waste, Chem. Eng. Progress 1983, 58—63.
4. Billet, R. VCH Verlagsgesellschaft MbH. Evaporation Technology—Principles, Applications, Economics; Weinheim: Germany, 1989.
5. Kakac, S., Ed. Boilers, Evaporators, and Condensers; Wiley Interscience: New York, 1991.
6. Cheremisinoff, N. P.; Cheremisinoff, P. N. Heat Transfer Equipment; Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ, 1993.
7. Freese, H. L. Evaporation, Fermentation and Biochemical Engineering Handbook; Vogel, H. C., Ed.; Noyes Publications: Park Ridge, NJ, 1983; 227—276.
8. Standiford, F. C. Thermal Design of Evaporators. Perry's Chemical Engineers'Handbook; Perry, R. H., Green, D. W., Maloney, J. O., Eds.; McGraw-Hill Book Company: New York, 1984; 10—34—10—38.
9. Azbel, D. Heat Transfer Applications in Process Engineering; Noyes Publications: Park Ridge, NJ, 1984.
10. Ulrich, G. D. A Guide to Chemical Engineering Process Design and Economics; John Wiley Sons: New York, 1984.
11. Evaporators. Thomas Register of American Manufacturers; Thomas Publishing Company: New York, 1990; 5, 8584—8595.
12. Chemical Processing Guide and Directory. Chem. Process. 1991, 53 (15), 118—122.
13. Myers, A. L.; Seider, W. D. Introduction to Chemical Engineering and Computer Calculations; Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ, 1976.
14. Blackadder, D. A.; Nedderman, R. M. A Handbook of Unit Operations; Academic Press: London, 1971.
15. Schilt, E. A. Evaporation Transfer Operations in Process Industries; Bhatia, M. V., Ed.; Technomic Publishing Co., Inc.: Lancaster, PA, 1983; 5, 267—299.
16. Esplugas, S.; Mata, J. Calculator Design of Multistage Evaporators. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; Ⅱ, 261—265.
17. Krishna, R. Book Review of: Evaporation Technology—Principles, Applications, Economics, by R. Billet. The Chemical Engineer 1989, (462), 53.
18. Cole, J. A Guide to the Selection of Evaporation Plant. The Chemical Engineer 1984, (404), 20—23.
19. Luyben, W. L.; Wenzel, L. A. Chemical Process Analysis: Mass and Energy Balances; Prentice Hall: Englewood Cliffs, NJ, 1988.
20. Kessler, D. P.; Greenkorn, R. A. Momentum, Heat, and Mass Transfer Fundamentals; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
21. Sandall, O. C.; Hanna, O. T.; et al. Heating and Evaporation of Turbulent Falling Liquid Films. AIChE J. 1988, 34 (3), 502—505.
22. Kocamustafaogullari, G.; Chen, I. Y. Falling Film Heat Transfer Analysis on a Bank of Horizontal Tube Evaporator. AIChE J. 1988, 34 (9), 1539—1549.
23. Han, J.; Fletcher, L. S. Falling Film Evaporation and Boiling in Circumferential and Axial Grooves on Horizontal Tubes. Ind. Eng. Chem. Process Design Dev. 1985, 24, 570—575.
24. Palen, J. W. Falling Film Evaporation in Vertical Tubes. Heat Exchanger Technology; Chisholm, D., Ed.; Elsevier Applied Science: London, 1988; 189—218.
25. Steiner, D.; Ozawa, M. Flow Boiling Heat Transfer in Horizontal and Vertical Tubes. Heat Exchangers: Theory and Practice; Taborek, J., Hewitt, G. F., Afgan, N., Eds.; Hemisphere: Washington, 1983; 19—34.
26. Chen, I. Y.; Kocamustafaogullari, G. An Experimental Study and Practical Correlations for Overall Heat Transfer Performance of Horizontal Tube Evaporator Design. Heat Transfer Equipment Fundamentals, Design, Applications, and Operating Problems; Shah, R. K., Ed.; The American Society of Mechanical Engineers: New York, 1989; 108, 23—32.
27. Han, J.; Fletcher, L. S. Falling Film Evaporation and Boiling in Circumferential and Axial Grooves on Horizontal Tubes. Ind. & Eng. Chem. Process Design Dev. 1985, 24, 570—575.
28. Evans, F. L., Jr. Ejectors, Equipment Design Handbook for Refineries and Chemical Plants; Gulf Publishing Company: Houston, 1979; 1, 105—117.
29. Evans, F. L., Jr. Ejectors, Equipment Design Handbook for Refineries and Chemical Plants; Gulf Publishing Company: Houston, 1979; 1, 105—117.
30. Pennink, H. Cost Savings from Evaporator Vapor Compression. Chem. Eng. 1986, 93, 79—81.
31. Ramakrishna, P. Estimate Optimum Number of Effects for Multi-Effect Evaporation. Chem. Eng. 1987, 94, 82.
32. Evaporation Process, Center for Environmental Research Information, National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and Development, U. S. Environmental Protection Agency, Capsule Report EPA/625/R-96/008, Cincinnati, OH, 1996.
33. Rubin, F. L.; Moak, H. A. Heat-Transfer Equip-

ment. Perry's Chemical Engineers'Handbook; Perry, R. H., Green, D. W., Maloney, J. O., Eds.; McGraw-Hill Book Company: New York, 1984; 11—3—11—59.
34. Knudsen, J. G.; Bell, K. J. Heat Transmission. Perry's Chemical Engineers'Handbook; Perry, R. H., Green, D. W., Maloney, J. O., Eds.; McGraw-Hill Book Company: New York, 1984; 11—3—11—59.
35. Chisholm, D. Heat Exchanger Technology; Elsevier Applied Science: London, 1988.
36. Taborek, J.; Hewitt, G. F.; Heat Exchangers: Theory and Practice; Hemisphere Publishing Corporation: Washington, 1983.
37. Shah, R. K. Heat Transfer Equipment Fundamentals, Design, Applications, and Operating Problems; The American Society of Mechanical Engineers: New York, 1989.
38. Peters, M. S.; Timmerhaus, K. D. Plant Design and Economics for Chemical Engineers; McGraw-Hill, Inc.: New York, 1991.
39. Hall, R. S.; Matley, J. Current Costs of Process Equipment. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; II, 337—357.
40. Hall, R. S.; Matley, J. Current Costs of Process Equipment. Chem. Eng. 1982.
41. Purohit, G. P. Estimating Costs of Shell-And-Tube Heat Exchangers. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; II, 319—330.
42. Purohit, G. P. Costs of Double-Pipe and Multitube Heat Exchangers-Part 1. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; II, 331—334.
43. Purohit, G. P. Costs of Double-Pipe and Multitube Heat Exchangers-Part 2. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; II, 335—336.
44. Kumana, J. D. Cost Update on Specialty Heat Exchangers. The Chemical Engineering Guide to Heat Transfer; McNaughton, K. J., Ed.; Hemisphere: Washington, 1986; II, 358—360.
45. To, L. C. Robust Nonlinear Control of Industrial Evaporation Systems. World Scientific: River Edge, NJ, 1999.
46. Dukelow, S. G. The Control of Boilers; The Instrument Society of America: Research Triangle Park, NC, 1991.
47. Equipment Testing Procedures Committee. Evaporators: A Guide to Performance Evaluation; AIChE Equipment Testing Procedure American Institute of Chemical Engineers: New York, 1978.

（洪赞飞 译）

Z

蒸汽灭菌法的生物验证

Nigel A. Halls

NHC—Nigel Halls Consulting, Chorleywood, Herts, U.K.

引言

蒸汽灭菌法的科学基础早已广为人知，而且历史悠久。蒸汽灭菌法是制药工业的首选灭菌方法，它广泛应用于各种包装的水性溶剂产品灭菌，以及无菌生产所需的设备和多孔材料灭菌、微生物实验室的培养基和其他材料灭菌，还用于大体积的容器管道系统（原位蒸汽系统 SIP）灭菌。关于蒸汽灭菌法已经发布了大量的规则和指南，但是该方法尤其是其生物学验证仍然是一个备受争议的课题。

本章旨在对蒸汽灭菌法的生物学验证进行综述，阐述哪些是必需的，为什么是必需的，并且将科学需要与管理需要在出现差异的情况下加以区别。

原理

如果发生不可逆的、有害的细胞内代谢反应，微生物将被灭活。在高温和有水分存在的条件下，如蒸汽灭菌，蒸汽输入的能量可使细胞内蛋白变性而灭活微生物。

尽管这些反应在生物化学水平上很复杂，但它们的动力学特征接近于一级反应。因此，纯系培养的微生物群落的灭活动力学为典型的一级反应的指数形式。在实验中，这就意味着高温灭活的微生物数量的对数值和时间呈线性关系[1]（图 1）。

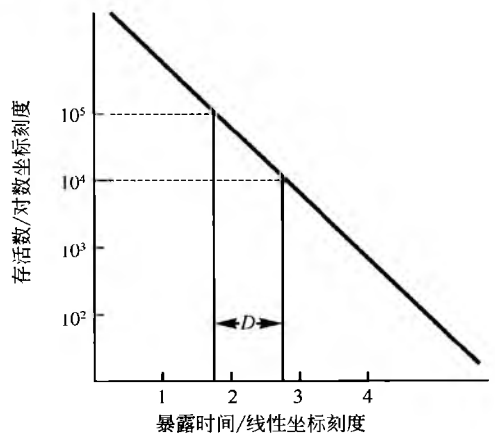


图 1 微生物的指数灭活（存活曲线）

我们从微生物灭活的动力学中得到极其重要的两点：

第一，对数坐标刻度不可能为零。这就意味着，在任何规定的温度和时间下都不能保证将污染物品中所有的微生物灭活。然而，无菌药物制剂中存活下来的微生物往往很容易对患者造成致命的后果，所以灭菌过程必须确保灭菌物品中存活的微生物概率足够低，达到确保患者安全的水平。药典接受的低概率是指处理物品中微生物存活的概率不大于百万分之一。这称为 10^{-6} 的非无菌概率或 10^{-6} 的无菌保证水平（SAL）。

第二，灭活曲线呈规则曲线。这就意味着，只要已知（或能安全假定）灭菌前污染物品的微生物数量和热耐受值（D_T 值，图 1），蒸汽灭菌法就是一个可预测的过程。这一点很重要，因为没有任何方法能够测出 10^{-6} 的无菌保证水平（SAL）的实际结果，即无法证实灭菌样品是否为无菌，除非破坏样品。药典中的“无菌试验”是一种统计学局限的破坏性试验，这种局限性几十年来一直受到批评[2~6]，现在我们有必要去很好地理解它们。例如，在 4/5 的情况下，按照检验要求每组样品抽样 20 件物品进行检测，含非无菌物品批次的样品以 1∶100 的频率通过。这与检测出低于 10^{-6} 非无菌概率的标准相距甚远。

基于蒸汽灭菌过程的规律性和可预测性，在特定灭菌器中指定的温度与时间下预测灭菌后药物制剂 SAL 可靠结果的合理性的方法是，通过科学地改进无菌标准和灭菌器参数以及通过随后对特定过程进行的验证。

确定无菌标准和灭菌器参数

无菌标准的改进与灭菌器参数的确定不同，二者均有别于验证过程（图 2）。

1. 适于无菌生产的药用产品与材料——无菌规范

对于与无菌生产有关的药用产品和材料，无菌规范是指：灭菌过程中的污染微生物在灭菌温度和时间及 F_0 或三者综合条件下的暴露时间必须超过灭菌过程的“维持”期。在实际操作中，这意味着水溶液产品内、橡胶塞或金属机械部件的表面或筒状滤器的折叠处等也必须达到这些要求。

灭菌器参数是确保无菌规范能够传递到负载物所有部分的实际标准。它们通常包括对温度和时间的规定，但是有一点很重要，即要认识到高压灭菌器控制台的机械设置的灭菌器参数和负载物内实际条件下的无菌规范不同。基本的消毒器参数还包括其他的规范，如负载物的构造、预真空的次数和深度、冷却特性等。

无菌规范具有产品特异性。灭菌器参数是由产品、包装规格以及高压灭菌器综合决定的。

无菌规范可由理论推导或实验室数据决定，而且适用于不同的包装规格，如从 1mL 安瓿到 5mL 小瓶，再到 50mL 小包。根据负载物的构造、腔室大小、蒸汽入口、控

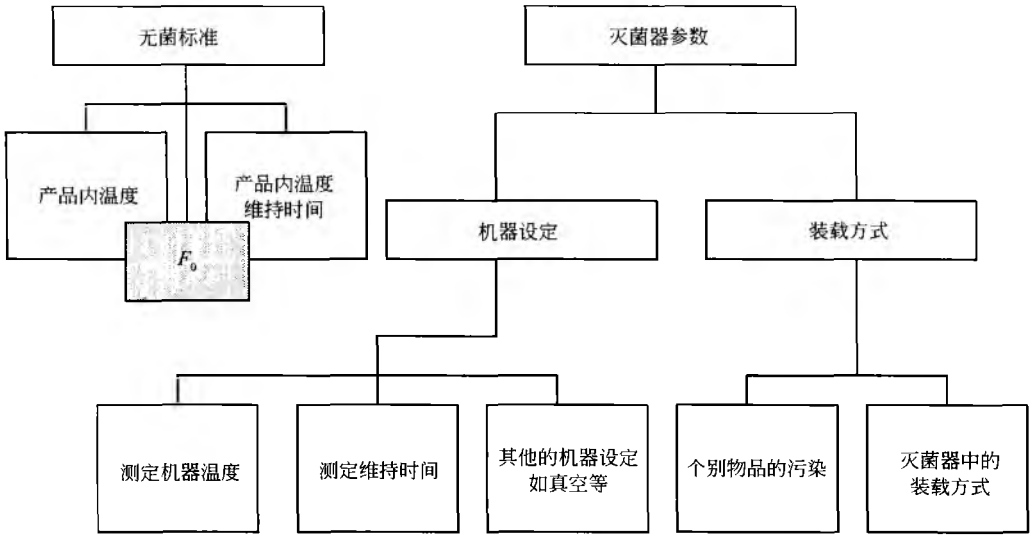


图 2 无菌规范和灭菌器参数

制系统等的不同，灭菌器参数需要根据无菌规范对不同包装规格的要求在同一高压灭菌器或不同灭菌器内进行转化。灭菌器参数是不可转移的，必须根据经验制定每一个高压灭菌器的参数。

无菌规范应该比较容易制定。药典允许根据有关污染灭菌物品的微生物数目和热耐受的实际数据制定无菌规范。这种表述看上去缺乏科学依据，但事实并非如此。药典提供推荐的过度杀灭规范（欧洲药典）或规范制定原则（美国药典）要求的热致死率远远超过实际需要的 10^{-6} 无菌保证水平（SAL），因此称为“过度灭菌”规范。

《欧洲药典》(PhEur) 将 121℃下灭菌 15min 作为水性制剂过度灭菌的参考条件，《美国药典》(USP) 定义致死率输入条件为 12D，这些规范值得仔细考察。

另外还需考虑制药生产环境中发现微生物的热耐受参数。分离出 D_{121} 值（水中）大于 0.3min 的耐热菌种几乎是不可能的。本章作者曾经测定与环境隔离的芽孢杆菌 D_{121} 值（水中）为 0.8min，但这是几十年前的事，而且所用的设备现在看来相当原始。因此，假设最差情况下 D_{121} 值为 1.0min 是相当合理的。考虑到这种“最差情况”，《欧洲药典》(PhEur) 将 121℃的“过度灭菌”规范为细菌减少 15 个数量级，这相当于保证了每件累计 10^9 微生物（D_{121} 值为 1.0min）污染的物品的 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）。《美国药典》(USP) 在同样前提下的致死率（12D）规范，保证了每件物品 10^6 污染菌群的 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）。

因此，药典的“过度灭菌”规范为达到 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）提供了相当程度的保证。然而，彻底灭菌的高水平推理值随水中 D 值（由产品内部或表面 D 值反映）变化。大多数药物产品可以使微生物的热耐受值与其水中 D 值的比值下降，但这不是完全正确的。一些材料（如橡胶等）可以增加微生物的热耐受（这可能和生化保护一样，归因于热传递的物理性质）。这些产品对热耐受产生的影响只能靠经验确定，在实验室里采用耐热菌种的内生孢子（通常是用嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢）进行。一些以前未发表的关于材料和药剂产品对嗜热脂肪芽孢杆菌 D 值相对于水中的比值的影响参考值已列于表 1 中，并且 Berger 等[7] 还对此进行了详细分析。嗜热脂肪芽孢杆菌在上述方面的应用，以及它们经常在生物学验证中用作生物指示剂（BI），均使人们有了“蒸汽灭菌法必须定义为能够杀灭此微生物”的观念。其实不然，嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢通常与蒸汽灭菌联系在一起是由于它们对蒸汽灭菌法的高耐受性，以及它们恢复和生长所需的独特条件所致。实际上，一些大公司则用产孢梭菌属或杆菌属的其他菌种作为参照或指示微生物。

表 1 嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢在各种不同基质中相对于水中（D 值约为 4min）的 D 值百分比

底物	相对于水中 D 值（100%）的百分比/%
不锈钢	60
疏水滤膜过滤器基质	90
硅树脂管	100
橡皮塞	85～150
聚碳酸酯	120
pH 在 3.4～3.7 之间的两种药品	15～40
pH 在 10.5～10.7 之间的药品	115

使用“过度灭菌”规范是非强制的。在一些情况下，可能有些药品无法承受彻底灭菌规范的温度或能量输入。这时，可以根据表示灭菌处理之前实际污染物品的微生物数量，或是根据表示污染微生物的实际数量和热耐受的数据来计算 10^{-6} 的无菌保证水平（SAL），从而改进规范。但问题在于这种演算是否值得进行，或选择这些热敏感产品

的无菌生产是否更合适和简单？

我们来考虑一下灭菌之前污染药品的微生物数量。预算出的最高和最低数量是多少？对于无菌注射产品，微生物的可接受数量预计最高为 10^2。这是因为每件物品含有 10^3 或更多的微生物可能成为致热原。倒计数推断出的最小数量为一个微生物。

由最初生物负荷 10^2 获得 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）需要减少 8 个数量级。将 8 个数量级的减少用于假设的最差情况耐热参数（水中 D_{121} 值为 1.0min），得出 121℃下灭菌 8min 的灭菌规范。

由最初生物负荷 1 获得 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）需要减少 6 个数量级。将 6 个数量级的减少用于假设的最差情况耐热参数（水中 D_{121} 值为 1.0min），得出 121℃下灭菌 6min 的灭菌规范。

测定耐热参数在技术上很复杂，并且需要有专门的设备（BIER 管）。由于任何微生物污染调查不可能将杆菌属排除在外，所以假定能分离出 D_{121} 值为 0.3min 级别的芽孢是合理的。利用这个数据得出，当生物负荷为 10^2 时，在 121℃下达到 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）的时间为 2.4min，当每个物品生物负荷为 1 个微生物时在 121℃下的灭菌时间为 1.8min。

表 2 归纳了通过这些不同方法计算的灭菌规范范围。很显然，如果微生物污染可以完全由数量和耐热参数来表征，就可以得到简单的灭菌规范（在 121℃时恒温灭菌时间为 2～3min）。实际上，恒温时间的界限是很难精确控制的，与加热和冷却时间相比，它在热致死率方面是无关紧要的，并且很难依靠调节器解决。如果缺少热耐受的完整热特性，由“生物负荷”方法计算得到的灭菌时间几乎不可能短于“过度灭菌”规范的时间。因此大多数情况下，耐热产品选择彻底灭菌周期与热敏感产品选择无菌生产是合理的。

表 2 按照不同方法计算得到的 121℃灭菌规范范围

项目	121℃的“维持”时间/min	
	可能的最短值	可能的最长值
“过度灭菌”（《欧洲药典》）	15	未指定
“过度灭菌”（《美国药典》）	12	未指定
只知生物负荷[1]数据	6	8
已知生物负荷[1]和热耐受[2]数据	1.8	2.4

1）假定“最差情况”D_{121} 值 1min 与每个物品至少 1 个到至多 100 个微生物的生物负荷；

2）计算的 D_{121} 值 0.3min 与每个物品至少 1 个到至多 100 个微生物的生物负荷。

一些产品可能只在高于阈值温度时才表现出热敏感的性质；对于可以耐受 110～118℃的温度范围却无法耐受 121℃的产品，可以把 F_0 的概念应用于上述原则，并从表 2 中所列的规范导出等价灭菌规范。表 3 概括了 116℃下灭菌的规范。可以看出，如果灭菌需要在（假如）116℃下进行，通过把握污染微生物的特性可以省下相当多的时间。

表 3 按照不同方法计算得到的 116℃灭菌规范范围

项目	116℃的“维持”时间/min	
	可能的最短值	可能的最长值
“过度灭菌”（《欧洲药典》）	48	未指定
“过度灭菌”（《美国药典》）	38	未指定
只知生物负荷[1]数据	19	26
已知生物负荷[1]和热耐受[2]数据	5.7	7.6

1）假定“最差情况”D_{121} 值 1min 与每个物品至少 1 个到至多 100 个微生物的生物负荷。为了等同，10K 的 Z 值已被使用。

2）计算的 D_{121} 值 0.3min 与每个物品至少 1 个到至多 100 个微生物的生物负荷。为了等同，10K 的 Z 值已被使用。

2. 用于无菌生产的药品和材料——灭菌器参数

灭菌器参数由产品、包装规格和灭菌器共同决定，而且必须根据经验确定。热渗透研究在性能合格性验证阶段之前进行，主要是用于确定装填模式、预真空处理、温度和压力的设定等，以确保灭菌规范能够传达至产品，并且能够均匀地遍及负载物。

例如，计划的装填模式可能无法达到负载物内的条件均一（在特定的界限内）。这种情况下，就需改换模式，或者在一个特定的高压灭菌器中，有必要将温度设定为 122℃，使负载物内部温度达到 121℃。

移除空气对多孔性负载物和器材负载物的灭菌尤为重要，而对水性制剂产品通常不太重要。对新高压灭菌器，空气移除是一项非常重要的技术指标，而那些指定用于水性产品灭菌的高压灭菌器则无需用到抽深度真空所需的泵和辅助设备。

不同类型产品在灭菌过程中使用的蒸汽是对于理解和控制高压灭菌器相当重要的一个考虑因素。

对于水性产品而言，蒸汽只是一种将产品温度升至特定灭菌温度的方式；蒸汽并未接触到污染的微生物。传递到污染微生物的热能（致死率）来自产品本身。实际上，任何合适形式的能源都能用于升高产品的温度。例如，如果将水性产品的安瓿在干热灭菌器内灭菌，微生物灭活的机制仍是细胞内蛋白凝结。但是，源自热空气的热传递要比源自蒸汽的热传递慢得多，这就是实践中不采用干热灭菌的原因。微波辐射是水性制剂产品灭菌可采用的另一种方法，其机制与蒸汽灭菌相同。当然有证据表明，微波的杀菌模式主要是热传递，极少直接从微波吸收能量[8,9]。

对于多孔性负载物和器材负载物，蒸汽可直接接触灭菌材料中的污染微生物，并且没有热量传递。蒸汽的内能是由其潜热决定的。如果蒸汽是纯的，即蒸汽没有夹带气体或水分，那么蒸汽压力下能量的大小由潜热决定，通过在微生物表面凝结传递至微生物。

器材和多孔负载物灭菌存在许多潜在的缺陷，这主要与空气和其他一些不可凝结的气体有关。首先，蒸汽的纯度相当重要。如果蒸汽夹带水分或不可凝结气体，它就不

能拥有与纯蒸汽相同的能量，并且其杀伤力小于纯蒸汽的预计值；其次，污染微生物周围的残余空气将阻碍微生物与蒸汽的接触，减弱能量（杀伤性）的传递。在此类灭菌中，蒸汽的质量尤为重要。此外，材料、控温之前高压灭菌器抽真空的次数和深度以及方式（如产品在高压灭菌器中采用蒸汽可透性包装或多孔托盘等）也都是很重要的。对所采用的措施是否足够控制这些复杂因素，监控温度只能给出很少的信息，因此通常用生物指示剂（BI）进行试验研究是必不可少的——作为过程改进的一部分以确保蒸汽传递的热杀伤性没有受到阻碍。这些改进研究将包含在生物学验证中。

3. 实验室中微生物培养基的灭菌

不同供应商的微生物培养基包含灭菌建议，列于“使用说明”项下的目录中，例如，“121℃高压灭菌 15～18min”。一定会有人问，这些规范是什么意思？

它们能像灭菌规范应用于无菌生产的材料和制剂产品那样用于培养基吗？它们是灭菌器参数吗？以前供应商的旧使用手册里的一些指示沿着“15psi（1psi=6.894 76kPa，下同）（121℃）高压灭菌 15～18min”扩展了他们的建议。由于 15psi 的压力在培养基中是无法达到的，所以很明显这些建议是用于灭菌器参数的。

在大多数情况下，如何来解释这些建议是不言而喻的。对于培养基，“煮过头”是很糟糕的，因为它会对生长培养基的性质产生有害影响，而“煮不够”通常会通过明显的污染而自我暴露出来。

4. SIP 系统

进行原位灭菌的系统通常非常庞杂。它们灭菌遇到的第一个挑战就是移除空气和管道升温以防止热量损失和凝结。同样，制定 SIP 系统灭菌规范所进行的大部分工作均与升温阶段有关。这里问题是：整个系统能否都达到灭菌温度？哪个部分最慢达到此温度？哪里需要安装控制探测器？

通常在 SIP 的恒温阶段前，要通过大量计算的热致死率作为 F_0 值。然而，灭菌温度是在蒸汽-空气混合物的条件下达到的，因此认为 SIP 系统升温阶段的生物学致死率和纯蒸汽的致死率相等是不正确的。

和早期的改进工作相比，系统保持在灭菌温度（灭菌规范）的时间，通常是较次要的考虑因素。它们通常是随意采用 121℃灭菌 15min、20min 或 30min，没有任何的科学根据。

也许，可以形成与药典中“过度灭菌”规范相应的基本原则。例如，如果在 SIP 系统中的微生物实际最大数量假定为 10^{12}（由于这些微生物量总计可达数克，所以 10^{12} 应该是最大值），然后必须经过 18 次对数缩减才能保证微生物的存活概率不超过百万分之一。假定每个微生物 D_{121} 值为 1min，提议 121℃下 20min 的过度灭菌周期需经 2 次对数缩减作为安全系数。

生物验证

验证的性能确认（PQ）阶段需密切关注灭菌规范以及符合灭菌规范的灭菌器参数的建立。在制药产品、设备、实验室培养基以及 SIP 系统的蒸汽灭菌过程中 PQ 的目的是确保灭菌规范能够一贯地达到预计目的。通过使用源自（通常）在三种不同情况下开发的工艺参数运行该过程，这些参数经测试看是否符合各种预定的可接受标准。作为 PQ 的一部分，生物验证的目的是确认依据工艺估计的致死率不会明显偏离预计值。生物验证是一种对一致性的“检验”，如果达不到可接受的标准，则需要更多的工艺开发工作。

考虑到研究证据的范围、完整性及其来历，采用常规的温度时间方法破坏微生物的活性时，只要在有足够热渗透性证据的情况下，就没有必要定期进行生物验证。但是，在实际操作中，致死率并不总能达到预计的要求。由于没有充分移除空气，这种与理想值偏离的情况非常频繁地发生在器材和多孔负载物的灭菌中。水性药剂产品灭菌中发生的与理想值偏离的情况，最可能是由于没有充分认识到产品会如何影响微生物的热耐受，但在工艺开发的早期阶段这是在实验室最好测定的，而不是在生物验证完成后处于产品推广的关键途径中再测定。

蒸汽灭菌过程生物验证的可接受标准通常（但不总是）由以下几条来定义：①N 个生物指示剂必须置于负载物中草图指定的位置；②每一个生物指示剂需包含至少 10^6 个嗜热脂肪芽孢杆菌的活芽孢；③负载物必须经过指定的高压灭菌器处理（验证周期）；④如果经过 x 天 55～60℃培养后生物指示剂中没有活芽孢，则认为生物验证是满意的。

药厂质量管理人员广泛认为，此方法是普通操作，灭活 10^6 个嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢的能力与达到 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）是一致。其实不然。但药典认可的（10～100 复制品内）最小 D 值 1.5min 灭活 10^6 个嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢，可保证其结果好于在最差情况生物负荷条件下的（表 4）10^{-6} 无菌保证水平（SAL），这一点是正确的。由表 4 还可看到相反的情况，即如果不能使 10^6 个嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢灭活，并不一定意味着无法达到 10^{-6} 无菌保证水平（SAL）。

表 4 10^6 个嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢灭活的灭菌置信度水平

项目	芽孢的 D 值			
	1.5min	2min	3min	4min
每个物品生物负荷为 10^2 个微生物（D 值为 1min）	10^{-10}	10^{-14}	10^{-22}	10^{-30}
每个物品生物负荷为 10^2 个微生物（D 值为 0.3min）	10^{-38}	10^{-51}	10^{-78}	10^{-104}
每个物品生物负荷为 1 个微生物（D 值为 1min）	10^{-12}	10^{-16}	10^{-24}	10^{-32}
每个物品生物负荷为 1 个微生物（D 值为 0.3min）	10^{-40}	10^{-53}	10^{-80}	10^{-106}

注：假设 10～100 个复制品内 10^6 个芽孢的灭活与 8 个数量级的灭活等价。

另一个药典中混乱的方面是关于彻底灭菌规范的定义："12D致死率输入"可以直接用生物验证表示。应该这样理解，任何菌群对数灭活的最大次数技术上限制为9次或10次D值。可用作生物指示剂（BI）的微生物最大数量应为10^7～10^8，微生物复活的敏感度应限制在大于10^{-2}。D值为1min的微生物12次对数灭活可得到间接证明——通过灭活10～100个复制生物指示剂（BI），每个生物指示剂包含10^6个D值为1.5min的芽孢；或通过灭活10～100个复制生物指示剂，每个生物指示剂包含10^4个D值为2min的芽孢。直接证明12D在技术上是不可能的。

生物验证中，嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢类似于一种终端分析试剂。例如，当pH低于7时，石蕊试剂从蓝变为红色，这只能表明pH不高于7。灭活10～100个生物指示剂（每个生物指示剂包含10^6个D值为1.5min的芽孢），只能证明传递的热致死率不低于12min的F_0值。《欧洲药典》（PhEur）中，121℃下灭菌15min的"过度灭菌"规范应能容易地满足这个要求，其他任何比121℃下灭菌更长时间的规范，或能满足F_0概念的更低温度更长时间的规范也能达到这一要求。

1. 用于生物验证的生物指示剂的数量与位置

生物学检验中，生物指示剂的数量通常在10～100任意选取。这两个界限是建立在实际考虑的基础上的。

生物指示剂的下限数值是确保生物验证能够代表负载物足够多的部分，以保证高压灭菌器各个部位的物品都能达到要求的致死率。确定这个数值一般的做法是：至少放置与用于热合格的温度传感器数量相同的生物指示剂。每个温度传感器的旁边放置一个生物指示剂的做法是合理的，这样能够将温度数据和生物学数据联系起来。此外，考虑到温度传感器可能起到移除空气或蒸汽渗透的导管作用，提供虚假的高致死率，还有一些生物指示剂需放置在没有传感器的地方。

生物指示剂的常用数量为20～30个。大于100的数量对于大型的高压灭菌器或是温度作图研究很有必要，但是在验证中，这样做并不能增加统计学置信度。大部分微生物质量管理实验室中，20～30个的生物指示剂数量较为常用。

在多孔的和设备"最小"负载物灭菌的生物验证中，放置20个或30个生物指示剂是不可行的。例如，最小负载物可以是一个筒式滤器、一个刷把头或一个机器支管。这些情况下，避免过多偏离生物验证的统计值是相当重要的。无论放置有多困难，建议至少放置5个生物指示剂。

2. 生物指示剂的选择

蒸汽灭菌过程的生物验证中，最常用的是嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢。这不是说要强制使用嗜热脂肪芽孢杆菌，也不是说只能使用它。一些公司也使用其他的微生物，如孢子，并且被管理机构接受。*B. subtilis*孢子比自然生物负荷中发现的微生物的蒸汽灭菌耐受性具有更高的范围，它的使用近年来受到了欧洲管理机构的批评。

生物指示剂的微生物选择原则是公认的：

• 用于验证的微生物必须对灭菌处理具有高耐受性。这并不意味着它们必须是人类所知的具有最高耐受性的微生物。根据其繁殖增长的培养基条件不同，嗜热脂肪芽孢杆菌的D_{121}值为1～4min。这高于大部分的*Bacillus* spp.孢子（其D_{121}值通常低于0.5min）。

• 用于验证的微生物必须对灭菌处理具有稳定的耐受性。生物指示剂的供应商所提供的数据表明，嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢能够在粗略控制的储存条件下长期存活并保持稳定的耐受性。

• 微生物必须易于培养，且在培养基中容易辨认。极少有微生物能够和嗜热脂肪芽孢杆菌一样，在55～60℃条件下的简单培养基中生长。

习惯上使用每个含10^6个芽孢（实际上为10^5～10^7个）的生物指示剂。此数值是根据惯例、实际操作以及方便性设定的，而不具有科学基础。比此更大的数量在培养基中操作比较困难并且会导致大的计数误差，而更小的数量则会降低实验的灵敏度。然而，生物验证广泛使用10^6个芽孢的方法（如前所述），导致了10^{-6}无菌保证水平（SAL）与嗜热脂肪芽孢杆菌下降6-log之间的混乱。

为生物指示剂选择固体基质还是液体基质是非常复杂的。

图3所示的决策树可帮助选择水性药品生物验证的芽孢基质。为了使用决策树，必须对产品对芽孢耐受性影响有一定的认识。如前面所述，这需要专门的设备和经验。

在所有情况下，水是水性药品生物验证中最常用的基质。但如果使用水会得到虚假的结果，就不采用。

• 如果产品中的嗜热脂肪芽孢杆菌D_{121}值比其在水中的高（即产品使芽孢对蒸汽灭菌有较高的耐受性），则必须将芽孢悬浮在产品中进行生物验证。否则，可能得到虚假的有利结果。

• 如果产品中的嗜热脂肪芽孢杆菌D_{121}值等于或低于其在水中的D_{121}值，并且灭菌规范是基于过度灭菌的，那么必须将芽孢悬浮在水中进行生物验证。但是，如果灭菌规范是专门为产品中微生物的耐受性而设定的，那么必须将芽孢悬浮在产品中进行生物验证，否则可能得到虚假的不利结果。

如果产品能够杀灭芽孢，就不能将芽孢悬浮在产品中。

对于一些其他材料（如用于无菌生产的器材和辅料等），其灭菌机制是依靠蒸汽和灭菌物品的直接接触，因此移除空气是相当重要的。对它们而言，通常在商用纸制芽孢条带和材料本身之间选择生物指示剂基质。图4所示的决策树会有所帮助。当前管理机构偏向使用接种产品，但商用纸制芽孢条带更为方便。"特制"的接种产品需要坚实的微生物方面的专门技术。图4所示的决策树会对在特殊情况下选择最佳方法有一定的帮助。

使用商用生物指示剂将许多确保生产质量的责任转给

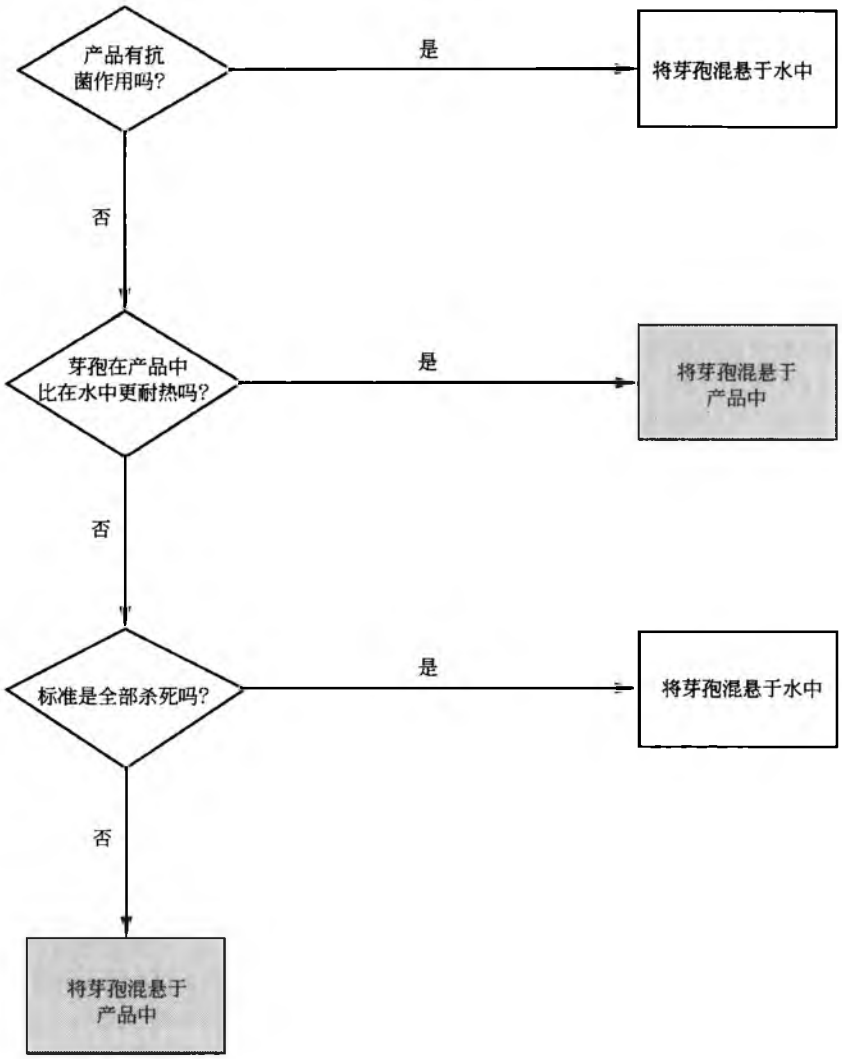


图3 水性液体负载物生物验证建议使用的生物指示剂基质

了供应商。抛开这点，它们的质量必须依据说明予以控制，并且应先于生物验证使用。为什么任何微生物实验室都不应核实每个商用生物指示剂中的芽孢数量？这是无需理由的。另外，确定耐受性需要专门的设备和技术，最好以供应商的说明细则为依据来进行。如果要核实的话，生物指示剂的使用者有责任知道耐受性检验措施意味着什么，它们应如何确定（在纸带上、在混悬水液中或在其他物品内部或表面），以及它们能正确测定并符合使用标准和法规。

3. 验证周期

验证通常是为了避免致死率低于为灭菌材料设立的灭菌规范所允许的低限值而进行的生物验证。若验证与实际操作使用选择不同的材料，那明显是错误的。那么什么是操作的合理依据呢？

在恒温阶段灭菌规范以温度和时间的形式出现，在它们周围设定了高、低两个界限。规范的低界限对灭菌是关键的。

时间通常很容易控制，可获得较高的准确度和精密度：蒸汽阀让蒸汽进入高压灭菌器内，直至达到恒温；然后将阀关闭，整个过程由定时器控制，当指定的恒温阶段快结束时，会发出控制信号以激活排气阀和降温程序。恒温时间通常是以整分钟的形式指定的——除了极不合适的定时器外，都能很好地满足其准确度与精密度的要求。

温度较难精确控制。高压灭菌器恒温阶段的温度通常由调节阀控制。当温度（或压力，因为这些阀门通常是通过压力转换器控制的）开始下降至规范的临界低限时，阀门打开让蒸汽进入。将高压灭菌器的整个恒温阶段都控制在规范温度的下限基本上是不可能的，即使是细微的偏差（高于或低于温度界限）都会使致死率显著不同。例如，在121℃的名义温度下，1K 的误差都可能使致死率增加或减少 25%。

因此，设计生物验证周期是为了确保不超过常规操作

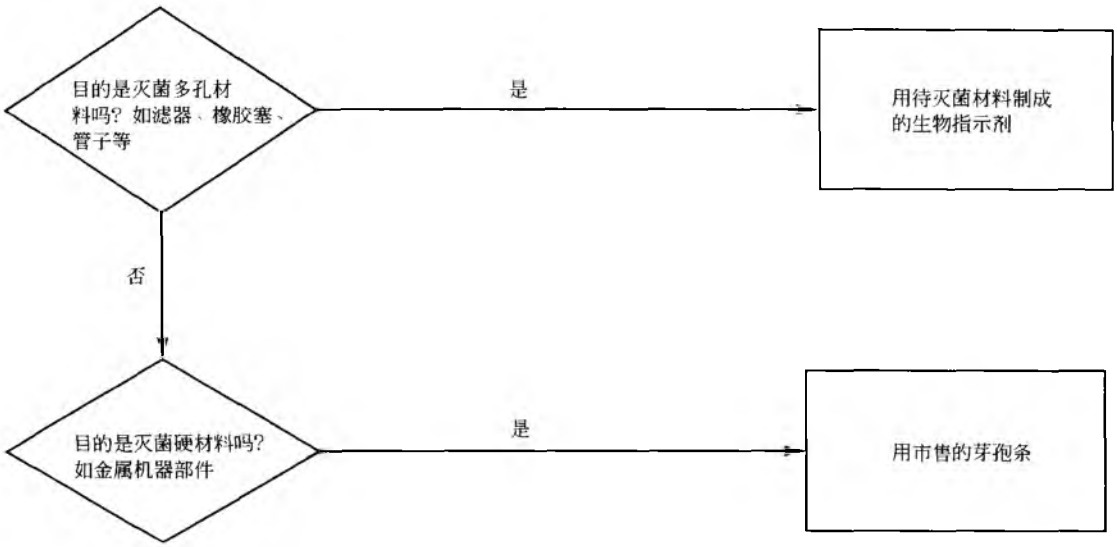


图 4　多孔负载物生物验证建议使用的生物指示剂基质

中灭菌规范致死率下限的指定值。在理想的情况下，这可以通过缩短恒温阶段的时间来实现，但当采用的周期很短时，有必要同时降低高压灭菌器的温度设定值。所有这样做的风险在于当规范和不标准的生产条件不一致时，生物验证周期将用作灭菌物品放行的证明。这个观点不应被接受。

4. 可接受标准

生物验证是一种限度检查，最多可得到两种可能性（全有或全无）的数据。每一生物指示剂必须单独检测有无活菌。可接受的标准应该是无活菌。

探测所有暴露的生物指示剂中的存活菌显然是不可接受的；如果生物指示剂从未接近灭菌器，那么可获得这样的结果。

显示一些而非全部的生物指示剂存活率的数据，对过程改进（尤其在多孔负载物和器材负载物的灭菌规范和灭菌器参数的改进）特别有价值，但有可能引发管理检查中的问题。从存活一些菌可以推断出，高压灭菌器装载的每一件物品并未受到相同的灭菌处理。

对于一个新开发工艺的首次验证，所有生物指示剂的完全灭活应该不难实现。

对于在蒸汽灭菌法中用作生物指示剂的嗜热脂肪芽孢杆菌芽孢，美国药典可接受的 D_{121} 值范围是 1.5～3.0min。过度灭菌或者 F_0 为 15min 的生物验证规范，将给出 10 次对数灭活，或如果每一生物指示剂有 10^6 个芽孢，在任一个生物指示剂中找到一个存活者的可能性为百万分之一，在 10 个生物指示剂中找到一个存活者的可能性为千分之一，在 100 个生物指示剂中找到一个存活者的可能性为百分之一，依此类推。换句话说，满足可接受标准有相当大的可能性。

然而，嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢可能具有 3min 的 D_{121} 值。在这种情况下，实际上就不可能满足可接受标准，那么 15min F_0 杀灭 10^6 个芽孢。这又意味着什么呢？

从表面上看，这意味着这种灭菌规范和灭菌器参数的组合无效。但是，请记住相同的灭菌规范和灭菌器参数组合，在使用生物指示剂的 D_{121} 值为 1.5min 时则有效。实际操作中，药典关于生物指示剂耐热参数的规定是比较粗糙的。许多公司购买嗜热脂肪芽孢杆菌的芽孢来制备生物指示剂或是商用条带都是按他们自己的规范订货，其中包括 D_{121} 值的上限（在水中）约为 2min 或 2.5min。本章作者曾发表过一些建议[10]，确定适合现有孢子的数量与 D_{121} 值的生物验证周期，但从长远看，当生物验证显示在 10～100 个生物指示剂复制品中有 10^6 个芽孢被灭活时，证明这是否符合管理机构的要求则要方便和容易得多。

5. 再验证

重复生物验证是明智的。高压灭菌器中总有变化发生，而且无论操作如何严格都无法得到确实可靠的变化控制程序。重复验证的目的是确定发生的无法预见的变化是否影响了灭菌物品的灭菌可信度。

生物指示剂的数量、耐受性和生物指示剂基质与初次验证中所用的极为相似，这一点对重复验证相当重要。和上述讨论过的生物指示剂耐受性差异出于同样的原因，如果这些因素没有能够很好地控制，则有可能在重复检验中出现过程安全性的虚假可靠（使用了比初次验证耐受性更低的生物指示剂），或出现认为实验过程失败的错误判断（使用了比初次验证耐受性更高的生物指示剂）。

生物学重复验证通常是在重要过程改变之后，或是以每年一次的频率进行。原则上，此频率的确定应以业务风险为基础；然而，实际上如果有设计精良与控制良好的高压灭菌器，复检时间间隔超过 1 年，在检查中引发管理机构批评的风险，要比将非无菌产品发放到市场大。

Z

6. 用于微生物培养基灭菌的实验室高压灭菌器的生物验证

不难证明，微生物培养基的灭菌有效性可以自我显示，不需要生物验证。生物验证针对实验室高压灭菌器的合格性不仅仅与实验室的培养基使用前后获得的无菌可信度有关（如果培养基非无菌，有可能得出虚假的阳性结果），还可将其用于无菌生产领域以进行环境监控（若其为非无菌污染区域和产品，或者曾经是安全的）。许多管理机构认为实验室高压灭菌器的生物验证是强制性的。

7. 原位蒸汽（SIP）系统的生物验证

原位蒸汽系统的范围涵盖从极小的系统（如一个混合管）（所有部分能在 2min 或 3min 内达到指定温度）到巨大的管道、阀门和输送管线的排列（可排除空气、冷凝水，并且在“最慢点”达到灭菌规范的指定温度需要 20min 或 30min）。

生物验证是必不可少的。判断生物指示剂放置的位置是很重要的。当然，必须考虑到达灭菌规范指定温度的“最慢点”。当然，也应考虑出口滤器和能够聚集冷凝水的低位点。此后，必须放置足够数量的生物指示剂以覆盖到整个系统，实际上这就意味着将生物指示剂放置在暴露时间长的位置。由于系统的升温时间，这些生物指示剂暴露在灭菌规范指定温度下的时间会比最慢点长 2 倍、3 倍或 4 倍。所以，不应该错误地相信从这些位置得到的有利结果。

参 考 文 献

1. Kelsey, J. C. The myth of surgical sterility. Lancet 1972, 1301－1303.
2. Savage, R. M. Sterility tests on surgical dressings. Quart. J. Pharm. Pharmacol. 1940, 13, 237－254.
3. Bryce, D. M. Tests for the sterility of pharmaceutical preparations. J. Pharm. Pharmacol. 1956, 8, 561－572.
4. Savage, R. M. Interpreting the Results of Sterility Tests. In Recent Developments in the Sterilization of Surgical Materials; The Pharmaceutical Press: London, 1961.
5. Ernst, R. R.; West, K. L.; Doyle, J. E. Problem areas in sterility testing. Bull. Parent. Drug Assoc. 1969, 23, 29－38.
6. Brown, M. R. W.; Gilbert, P. Increasing the probability of sterility of medicinal products. J. Pharm. Pharmacol. 1977, 29, 517－523.
7. Berger, T. J.; Chavez, C.; Tew, R. D.; Navasca, F. T.; Ostrow, D. H. Biological indicator comparative analysis in various product formulations and closure sites. PDA J. Pharmaceut. Sci. Technol. 2000, 54 (2), 101－109.
8. Yeo, C. B. A.; Watson, I. A.; Stewart-Tull, D. E. S.; Koh, V. H. H. Heat transfer analysis of Staphylococcus aureus on stainless steel with microwave radiation. J. Appl. Microbiol. 1999, 87, 396－401.
9. Watanabe, K.; Kakita, Y.; Kashige, N.; Miake, F.; Tsukiji, T. Effect of ionic strength on the inactivation of microorganisms by microwave irradiation. Lett. Appl. Microbiol. 2000, 31, 52－56.
10. Halls, N. A. Resistance Creep of Biological Indicators. In Sterilization of Medical Products; Morrissey, R. F., Kowalski, J. B., Eds.; Polysciences Publications Inc.: Champlain, NY, 1998; Vol. VII.

（龚明涛　沈航孝　刘笑芬　译）

Z

致癌性试验的历史、现状和前景

Koen Van Deun

Janssen Pharmaceutica N. V., Beerse, Belgium

引言

本章对癌症、致癌性试验和人致癌病因做了历史性地回顾。很长时间之前人们就认识到了癌，但直到20世纪才意识到化学品可以致癌。因此，相关部门立法禁止在食物链中使用致癌物，并对在动物体内进行的致癌性测试提供了指南。20世纪60年代以来对两种主要啮齿动物（大鼠和小鼠）进行了终生研究（18～24个月），即标准长期生物测定。

由长期生物测定暴露了多种缺陷：过分敏感是主要的一种。长期生物测定法已测试过几百种化合物，但大约得到了50%的假阳性结果。一些机理研究表明这种测定法缺乏与人的相关性。另外，越来越多的机理和分子方面的认知丰富了人体致癌性领域，包括遗传毒性和后天的致癌物、癌症的多期理论和致癌作用中的人生活方式因素等。

上述进展为致癌性试验增加了新的机会，包括可替代的短期致癌性模型等。此外，致癌性试验正从标准长期生物测定法向重证据的方向发展，后者涉及对啮齿动物和人致癌作用机制的思考，并鼓励工业界和管理当局之间的沟通。

致癌性试验的历史

1. 癌症、致癌性试验和人癌病因的历史

癌症的历史可能和多细胞生物一样漫长。古生物学者在恐龙骨骼里发现了肿瘤，远远早于现代人类的出现。古代埃及人就已知道人会患癌症。一张草纸用象形文字记载了临床中肿瘤的发现。埃及木乃伊解剖显示有骨肿瘤的存在。公元前4世纪古希腊医生希波克拉底第一次真正描述了多种不同的肿瘤，并且使用“癌”这个名词表示一种可以扩散且致死的肿瘤。公元前1世纪伽林将“自然肿瘤”（可在女性青春期乳房发育时出现）和“不受自然限制的肿瘤”（如在骨折后与骨恢复有关）区分开来，并将后者称为“非自然肿瘤”，即现在定义的“肿瘤”组织生长。许多世纪以来希波克拉底和伽林的观点主宰着医药界。19世纪受组织学和解剖学研究深化的影响，癌症知识有了巨大的进步。Bichat和后来的米乐证实了伽林的理论。他们假定癌症是由组织构象异常形成的，这促使巴斯德提出他的理论“*omnis cellula et cellula*”，即每个细胞起源于另一个细胞。

18世纪后期首次发现接触外源化学物可以致癌，Percival Pott证实阴囊癌和烟囱清洁工工作时接触煤焦油或煤灰有关。后来的发现包括接触非精制矿物油的纺纱工人易患阴囊癌及接触用作抗氧化剂的芳香胺的纺织染料和橡胶业从业男性易患膀胱癌。1918年，Yamagiwa和Ichikawa首次详细报道了有实验依据的化学物致癌，反复将煤焦油用于家兔的耳朵可导致皮肤癌。几年后，Kennaway和Leitch验证了这个发现，并证实了将煤灰、其他类别的焦油（如乙炔或异戊二烯）和某些热的矿物油用于小鼠和家兔有类似的效果。这些研究者还观察到在实验部位有皮肤“刺激”，有时伴有溃疡。“刺激”被认为是皮肤肿瘤发病中一个重要因素。然而，不是所有的刺激物（如吖啶）都可以在小鼠中诱导皮肤癌；相反，从这些原始物中分离到的纯化学物尽管几乎没有刺激但有高致癌性。这些观察揭示由致癌物引起的细胞内的变化可能导致癌症，而与肉眼可见伤或光学显微镜下观察到的损伤无关。因此人们提出了这样的假设，认为癌症源于化学物和细胞的“敏感”部位的相互作用。可进一步参阅文献［1～3］等关于癌症的早期历史和观念的文章。

20世纪中期，人们越来越关注人类癌症发病与接触化学物质的相关性。截至20世纪50年代，为人所知的癌症病因都与工作场所接触的化学物质有关。这使人们相信大多数人类癌症都是由环境中的化学物质引起的。例如，Hueper观察到肺癌的增长率与工业和机动化运输的显著增长相吻合，且与工业致癌产品以及它们排出的污物和废气释放到工作场所和大气中有关。然而，Wynder和Doll稍后证明癌症的主要类型——肺癌在男性中明显增加的主要原因是长期吸烟和接触香烟烟雾。

除化学物质与细胞内特定位点相互作用之外，纤维肉瘤是较早发现的诱导肿瘤发生的指征之一。在大鼠皮下植入一片酚醛塑料，可在其周围发现纤维肉瘤。在大鼠肾脏周围包一片赛璐玢薄膜之后可以观察到类似的结果，几个月之后一些大鼠体内赛璐玢周围部位观察到大的肿瘤。20世纪60年代，将多种固体物（包括金、银和铂等贵金属）植入体内，可诱发了肉瘤的产生，从而再次证明了固态物的致癌作用。植入物的形状，特别是大小，对肉瘤的诱导有决定性的作用。此外，在大鼠和小鼠皮下重复注射右旋糖酐铁，可产生这种类型的肿瘤。其后的研究明确揭示在大鼠和小鼠皮下反复使用某些食物色素，可引起原位肉瘤。诱导产生肉瘤的主要机理是由生理组织损伤特性决定的结缔组织修复过程的持续激活。Grasso等[3]和Weissburger[4]提供了更多关于化学物和固态物在啮齿类动物中致癌作用的例子。本综述中将进一步介绍在致癌性方面等更多最近的进展。

Z

2. 致癌性试验立法的历史

致癌物通过食物以食物添加剂和食物污染物（如杀虫剂）等形式进入人类环境成为当代社会最关心的问题之一。因此，相关部门在美国国会对早在 1908 年制定的纯食品和药品法律进行令人满意的修改之前举行了听证会。1958 年和 1960 年，国会议员 Delaney 引入了以下两条法律条款，即“Delaney 条款”：

（1）1958 年食品添加剂修正条款：联邦食品、药品和化妆品法案 409 条（c）[3]（A）：“……如果食品添加剂被人或动物摄取后发现诱发癌症，或者经食品添加剂安全性评价试验评定认为在人或动物体内诱发癌症，则该添加剂应该认为是不安全的。”

（2）1960 年色素添加剂修正条款：联邦食品、药品和化妆品法案 706 条（b）[5]（B）：“如果一种色素添加剂可以被摄取，或者经色素添加剂安全性评价以及人和动物接触后经权威部门认定在人或动物体内诱导癌症，则这种色素添加剂被认为是不安全的，且不能被当作合适的色素添加剂使用。”

这项立法绝对禁止“致癌物质”进入食物链，并首次规定任何致癌物质均不准加入食品或化妆品中，且没有必要进行定量以及风险性计算。需要获取这个条款更详细的信息可以查阅 Weissburger 的文章[4]。

1961 年，美国癌症研究所（NCI）展开了“生物测定计划”。这项计划是基于对动物（大鼠和小鼠）体内的化学致癌作用系统研究的需要。每项试验都包括相应的阴性和阳性致癌物，以确保模型实际得到真实的结果。毒理预试验每组用 5 只大鼠或小鼠，给药 6 周，随后 2 周不给药以检测延迟毒性。存活的动物可以提供有关存活率、体重增加（减少）、最高可能剂量和最大耐受剂量（MTD）等信息。正式的 NCI 长期生物测定包括对大鼠和小鼠一生（18～24 个月）口服给药 MTD 剂量，第二组则给予 50%或 30%剂量的 MTD。文献中若干生物测定法表明已知致癌物只在高剂量水平时才能以较高概率地诱导癌症，这也是挑选 MTD 的原理。在 20 世纪 60～80 年代，NCI 生物测定项目测试了多种类型的人类可能接触到的化学物质，包括用于癌症化疗的化学物、头发染料配方和一系列农用化学品（如杀虫剂和杀真菌剂等）。

NCI 长期生物测定成为致癌性试验通用指南的基础。为了提高科学接受度大规模生物测定的实验方案和报告被标准化了。

许多化学物质被大鼠和小鼠服用后可以诱导癌症。一些化学物质，尤其是一些农用化学品在大鼠模型中呈阴性，而在小鼠中则诱导肝脏肿瘤。不管出现何种反应，只要化学物在任一测试中诱导癌症，则被认为是致癌物，且不用考虑它的相关性和基础机理，即可外推得出结论认为该化学物质对人类也有致癌风险。

20 世纪 80 年代末期，NCI 致癌作用研究部门和其他研究目标相似的部门合并构成了国家毒理学计划项目（NTP）。NTP 更侧重于诱变性和其他短期测试、致畸、行为研究、神经毒性以及各种亚长期研究。

想获取更多有关慢性生物测定的历史信息可以查阅 Weissburger[5,6] 的综述。

3. 致癌性试验指导原则

20 世纪 70 年代和 80 年代，美国、欧洲和日本的注册当局针对可能被人体长期摄取的多种化学物致癌性的动物试验制定了指南。这些化学物质包括食品和色素添加剂、农业化学物、工业化学物、溶剂、医药品和兽医药品。这些指南是基于 NTP 的慢性生物测定而制定的，并对进入人体途径、频率、剂量水平、每组动物数量、研究持续时间和研究过程中的观察报告等做出了规定。表 1 列出了各种指南的摘要。Inveresk Research International[7] 提供了各种指南的更详细的信息。同时绝大多数指南的较新版本已经生效。

表 1 动物体内致癌性测试指南的确立

区域	范围	当局，批准时间
全球	化学品	OECD，1981
美国	食品和色素添加剂	FDA，1982
	农业化学物	EPA-FIFRA，1984
	化学物	EPA-TSCA，1985
欧共体	药品	EC 管理机构，1983
	化学物	EC 管理机构，1988
日本	农业化学物	MAFF，1985
	兽药	MAFF，1988
	药品	MHW，1989

注：EPA—美国环境署；FDA—美国食品药品管理局；FIFRA—联邦杀虫剂、杀真菌剂和灭鼠剂法案；MAFF—农林水产省；MHW—日本卫生福利部；OECD—经济合作与发展组织；TCSA—有毒物质控制法案。

现行的致癌性试验

本节介绍对化学物的安全性进行致癌性试验的标准方法。

1. 标准的啮齿目动物长期生物测定法

1.1 种族和品系

根据上述指南，致癌性研究应在两种啮齿动物中实施，通常是大鼠和小鼠。理想情况下该品系应具有低的自发致癌率，而又要对人致癌物敏感。通常用的大鼠是 Sprague Dawley、Fisher F344 和 Wistar 品系，小鼠用 CD-1 或 C57BL 品系。每个剂量组应至少包括各种性别动物 50 只。一般研究需要 1 组阴性对照之外和 3 个剂量组，因此一项研究最少需要 200 只雄性和 200 只雌性动物。

1.2 剂量和给化合物途径

动物从 6 周开始每天接触试验化合物。给化合物过程

应尽可能模拟人接触化合物的状态，最常用的途径是口服。

过去受试物质常常混在饮用水或饲料里给动物服用。整个研究过程中可以固定饲料中药物的浓度，或者在预期存活期中维持每千克体重的给药剂量不变。如今，除了农用化学物质和食品添加剂还应用饲料给药外，其余的都采用口腔管饲法胃中给药。口腔管饲法给药可以使供试物质的摄取量更准确，但其受试物质与体内环境接触的模式与其他给药方式相比则有不同（给药后即达峰值）。剂量选择主要基于MTD，MTD可以被定义为能引起轻微的靶器官毒性，但除非诱导产生肿瘤，否则不会因任何毒性作用而缩短处理动物的存活能力。就绝大多数情况而言，体重增减10%可以作为最小毒性迹象。中剂量可能引起最小毒性，而低剂量应该是无任何毒性的。

MTD主要取决于3个月的剂量范围研究，在关键的慢性生物测定中允许设定最佳剂量。

1.3 持续时间

研究应持续至少24个月，并且对照组与低剂量组雄性和雌性每种性别应至少存活25只动物。过去这种研究常常超过24个月，因为存活量（特别是对照组和低剂量组）在24个月时仍大于25只动物（组或性别），且致癌性作用可能在较晚时间才出现。因为只有在结束点后期才能看见，所以这些研究通常要延长并且超过24个月。如今老年病病理学的发展使得致癌作用的评估变得复杂和模糊，所以大多数致癌性研究并不延长。

1.4 实验条件

实验条件极其重要，它可以影响研究的结果。在研究过程中，卫生、温度、相对湿度、空气置换次数和光照等因素必须保持恒定且进行监控。

如今致癌性研究是在无特定致病源（SPF）条件下进行的。这意味着SPF动物必须商业购买，且到达实验单位后必须置于SPF房间里饲养。其他需考虑的因素包括检疫、健康监控和操作时的卫生措施，如消毒手套和口罩等。药品非临床研究质量管理规定（GLP）也致力于改进实验条件。GLP不仅可应用于动物处理，而且对研究中的文件管理和试验操作记录都有明确的要求。这使研究数据和结果能有更好的可追踪性、重建性和解释性。所有实验条件的改进都改善了动物的存活情况。过去由于呼吸道或其他传染性疾病而导致很多死亡，而现在由于动物的健康条件有了提高，这些情况几乎不会出现。

1.5 研究中测定的参数

表2为24个月的研究中测定的多种参数。为了获得意外发现每日重复试验极其重要。如果出现问题，需要立刻通知研究主管、兽医或病理学家，并且迅速采取适当的措施。尸检或者研究结束后，通常平均采集30个组织样品并进行肉眼检查。在单一致癌性研究中，组织样品数可达12 000或更多。所有的组织均加以处理以对肿瘤及非肿瘤变化做进一步显微镜的检查。这些检查由啮齿动物病理学方面的病理学家承担。最终目标是检测带有肿瘤的动物数目，以及肿瘤的多重性和这些肿瘤是否造成了动物死亡。

1.6 组织病理学检查

如表2所示，组织病理学的检查必须在所有的动物上实行，以检出由试验化合物诱导的“非肿瘤的”变化，尤其是“肿瘤的”变化。非肿瘤的变化可能包括各种组织的炎性变化、变性或其他的变化，如由受试化合物或老年病病理学造成的变化。肿瘤的变化可分成“良性”和“恶性”肿瘤。良性肿瘤很好定义，通常为有囊包的、非侵袭性的和分化很好的。它们生长相对较慢，相对少有丝分裂，并无转移性。恶性肿瘤不太好定义，通常没有背囊，具有侵袭性，并且相对未分化；它们生长得很快，大量地有丝分裂，最后转移。

肿瘤发展的前期会出现“增生”（细胞数目的增加）和“肥大”（细胞尺寸的增加）现象。

组织病理学检测是一项繁冗的工作。对所有的组织进行检测可能要花几个月时间。另外，组织病理学家将把动物个体或者剂量组的组织病理学的发现与其他非形态（如血液学或生物化学等）的发现综合起来。如此确立了对这些发现的诊断和机理。为了确认确切的诊断或机理，需要由独立的病理学家进行同行评议。

表2 致癌性研究中观察或测试的参数及频率

频率	参数	预期终点的例子
每日	死亡率	每周死亡或处死
		死亡或处死状况：
		在恶劣条件下自然死亡或处死
		最终处死
	临床观察	毒性的药物相关迹象
		恶劣条件下，前述的死亡率
每周	体重和体重增加	药物相关的体重和体重增加或减轻（在MTD接受体重上下10%～15%浮动）
	食物消耗	食物摄取中药物相关的变化
6个月或12个月后	毒物代谢动力学	母化学物和代谢物的暴露及与人类暴露相关

续表

频率	参数	预期终点的例子
6个月、12个月、18个月后和终点	血液学 临床生物化学	与药物相关的血液学的偏差 与药物相关的生物化学的偏差
终点（除了器官质量外也就所有死亡或被处死的动物进行研究）	肉眼疾病 器官质量 组织病理学	与药物相关的肉眼可见的发现物 与药物相关的器官质量变化 非新生物变化（包括“肿瘤前的”变化，如超常增生） 新生物变化（肿瘤） 恶性肿瘤状况（恶性或良性） 死亡原因（引起死亡的肿瘤＝可能致命和致命的肿瘤；不引起死亡的肿瘤＝可能偶然或偶然的肿瘤；最终处死动物中的肿瘤） 肿瘤多样性（大量的肿瘤、动物和组织）

1.7 历史对照数据

历史对照数据能用于解释致癌性数据中看到的变化。这些对照数据能用于研究，如血液学、生物化学和肿瘤发生率等不同的参数。对于当剂量组动物中肿瘤的发生率和对照动物的肿瘤发生率有差别时（有时会怀疑为巧合），或者对于偶尔发病的肿瘤，这些参数则可以用于解释。

在未处理过的大鼠和小鼠中通常可以观察到肿瘤的自然发生，且品系之间有差异，包括大鼠的垂体瘤和乳房瘤、小鼠的肝脏和肺肿瘤。肿瘤的发生率是可变的，甚至到目前除了随意饲养外，对肿瘤的病因学也没有清楚地理解。另外，热量摄取限制（与细胞复制速度的减少有关）能延迟衰老，并且能减少变性疾病的发生率和肿瘤发生率[2]。

1.8 统计学分析

在研究中对所有参数进行统计学分析。基本的目标是确定与不接触受试物的对照组比较，给予受试物的动物是否会增加肿瘤发生率。可以采用各种统计方法。两个剂量组之间肿瘤发生率是否增加的试验可以用“配对比较”，采用如 χ^2 检验（Chi-square test）的 2×2 表、Fisher 的精确检验或 Cochan-Armitage 检验。当各种剂量组间动物的生存率有足够差异时，这些检验方法是最合适的。

如果处理的结果造成幸存动物减少，那么高剂量组中早期死亡率可能排除肿瘤的生长，因而需要其他统计方法。Peto 考虑到存活数和观察到肿瘤在时间上的差异，提出了一种由于处理方式造成肿瘤发生率上出现差别的检验方法。这种方法需要每一动物的死因信息。该方法的建立基于两种肿瘤的时间列联表分析：一种为易发的偶然肿瘤，这种肿瘤不杀死它们的宿主；另一种为致命性肿瘤，导致宿主在研究之前就死去了。这两种检验方法综合起来可以得到一种新的检验方法，该方法可以用于治疗组之间存活率有差别的肿瘤发病趋势增加的研究。研究设计和统计分析上更多的信息由 Feron[8]、Gart[10]、Ciminera 和 Allen[11] 提供。

2. 癌症风险评估

一旦致癌性试验完成，就必须进行致癌性风险评估。管理部门有责任鉴别和评估加在食物中的、作为药物供给的或有可能释放到环境中造成危害的化合物。为致癌风险定性时需要考虑多种事项，包括危害鉴别（即成为人致癌物的可能性）、剂量响应和人接触的量。每一种评估法包括许多假设和估算的运用，但由于更多的如机理研究、药代动力学数据及改进的低剂量外推法模型等信息的结合使其重要性可能减少。Velasquez 等[12] 已经提供了一份由美国环境保护局（EPA）提交的癌症风险评估的概况和癌症风险评估的生物学事宜。另外，国际癌症研究机构（IARC）已经评估并发布了几百种化学物质对人的致癌风险[13,14]。

在以上两个体系中，包括药物在内的化学品可分为五类：①对人致癌；②很可能对人致癌；③可能对人致癌；④对人的致癌性不可分类；⑤很可能对人不致癌。上述分类是基于对人和动物进行研究得出的数据以及支持数据进行的科学判断。数据为判断物质对人和啮齿动物的致癌性提供了充分的、有限的或不充分的证据。

例如，被归类为很可能对人致癌的物质与人接触后表现出与人癌症发病率呈正相关，并且在动物体内也显示出致癌性。列为可能对人致癌的物质只在动物的致癌性方面有充分证据，但人方面的数据不充分或没有。

3. 1960～2000 年致癌性测试和观念的进步

自从引入标准慢性生物学鉴定后，人们对致癌性的机理认识有了极大的增长。首先，“遗传毒性”致癌物从“非遗传毒性”致癌物中分出来，从而使遗传毒性试验成为一套独立的试验；其次，致癌作用的“多级”概念扩展到分子水平；最后，发现“生活方式因子”在人癌症病因中起着重要作用。

3.1 遗传毒性与非遗传毒性致癌物

20 世纪 70 年代，Ames 假设大多数人致癌物是“遗传毒性的”。遗传毒性化合物能直接地或间接地（代谢激活后）和 DNA 起作用，造成遗传物质改变，大多数情况下这种改变对人和啮齿动物有致癌作用。另外，许多啮齿动物致癌物是“非遗传毒性”或“后天的”，并且通过不同的机理起作用。

根据这两种致癌作用基本机理将当前化学致癌物分为“遗传毒性致癌物”和“非遗传毒性致癌物”或“后天致癌物”。第二类物质主要影响细胞，从而在啮齿动物中致癌（“啮齿动物致癌物”）。每一种遗传毒性和非遗传毒性致癌物都有自己的特性，可继续分类，如表 3 所示。一个典型的非遗传毒性啮齿动物致癌物是人造甜味剂——糖精。过去的研究表明糖精可致大鼠膀胱癌，因此被归类为有可能的人致癌物。现在糖精则从可能的人致癌物列表中消除，因为大量实验数据表明大鼠膀胱癌的发病机理与人不同，因此糖精与人的膀胱癌发病没有关系。镇静剂苯巴比妥可在啮齿动物中广泛诱导药物代谢酶，这可导致肝脏肿瘤，同时肝酶加速了甲状腺激素的分解代谢，而补偿机制刺激甲状腺兴奋，从而进一步导致甲状腺增生和肥大，最终导致甲状腺肿瘤。流行病学研究已表明苯巴比妥在人体内不会引起这种效应。Purchase[15]、Shaw 和 Jones[16]、Van Cauteren [17]及 Williams 和 Whysner[18]在有关后天致癌物方面发表了更详细的解释和例子。

表 3　化学致癌物的主要分类

种类	分类（+例子）	特征
具遗传毒性的	DNA-烷化剂	跨物种出现
	激活-不依赖的（芥子气）	在低剂量水平
	激活-依赖的（亚硝胺）	潜伏期短
	用 DNA 干扰（无机金属）	对于人类外推没有阈值
后天的	启动子（苯巴比妥）	大多数在一物种，一株或同一性别中
	细胞毒性/有丝分裂剂（*d*-柠檬烯，糖精）	在高剂量水平（MTD）
	激素-调解物（雌激素）	潜伏期长
	免疫抑制剂（环磷酰胺）	对于人类外推存在重要的阈值
	过氧化物酶体增殖子（氯贝特）	
	受体-介导（二噁英）	
	各种各样的机制（氨基三乙酸钠）	

随着人们对遗传毒性和非遗传毒性机理认识的增长，在药物开发的早期阶段和慢性生物鉴定之前，分别设计了一组试验来评价“遗传毒性”。这些检测方法因试验系统而异，如从细菌、酵母细胞和果蝇到小鼠淋巴细胞或人淋巴细胞的细胞培养以及体内系统，如啮齿动物的骨髓接触等均不同。表 4 列出了当前常规试验中实施的遗传毒性检测。

表 4　遗传毒性检测的概要

遗传毒性	基因损伤类型
根据当前 ICH-4 标准检测：	
在鼠伤寒沙门氏菌或大肠杆菌（体外）中进行细菌回复突变实验	基因突变
在人淋巴细胞（体外）中进行染色体畸变试验或在鼠淋巴瘤细胞（体外）中进行鼠淋巴瘤试验	染色体畸变 染色体畸变和基因突变
在啮齿类动物骨髓（体内）中进行微核试验	染色体畸变
如有需要进行额外的检测：	
在啮齿肝细胞（体外/体内）中进行程序外 DNA 合成试验	原发 DNA 损伤
32P-后标记测试	原发 DNA 损伤
用转基因动物测试	基因突变
在人淋巴细胞（体外）或在啮齿动物骨髓（体内）外进行染色体畸变检测	染色体畸变

如表 4 所示，一组遗传毒性试验研究了诱导基因突变或染色体异常的可能性。另外，DNA 损伤和修复需单独研究。体外研究发现某些化合物经生物活化成亲电性物质后才有遗传毒性。因此，在一些体外研究中加入肝脏的酶片段，以模拟通常化合物在体内代谢激活（或失活）途径。与非遗传毒性致癌物的认识以及后天致癌作用机理相比，啮齿动物的遗传毒性致癌物方面的知识明显在推断或关联与人的致癌方面有更大的重要性。例如，人们接触到一些通过后天机理在实验动物中致癌的许多杀虫剂会引起癌症，但人并不一定得癌症，通常是因为接触量低于非遗传效应致病的阈值。另外，某些癌症机理可能对啮齿类试验动物有特异性，人接触不会引起发病。

3.2　多阶段癌症概念

20 世纪 60 年代，Armitage 和 Doll 提出了多阶段癌症的假说。根据这一理论，肿瘤起源于细胞水平上单细胞，

这些单细胞在连续不断的独立事件后获得了增殖能力。结肠癌就是一个多阶段致癌作用的典型例子，在其发展过程中至少有六个阶段。最近研究人员有机会了解肿瘤发展进程中分子水平的变化。在这个模型中体细胞改变的一些例子包括约50%的“ras”原致癌基因的基因突变和大约75%的结肠直肠癌中“P53”肿瘤抑制基因的缺失。类似的变化也存在于人的其他肿瘤，如肺、乳腺和脑肿瘤。有关多阶段致癌作用更详细的信息和例子由Fearon和Vogelstein[19]、Couch[20]以及Purchase[15]提供。基于以上的理论，致癌作用的主要步骤是：①“起始”（首先刺激物导致细胞核内DNA的变化）；②“促进”（遗传变化的进一步表达，导致良性肿瘤）；③“恶化”（肿瘤的进一步发展导致恶性化和临床表现）。

“起始”是致癌作用的第一阶段，细胞接触致癌物。在这个阶段一个不可逆的步骤是子细胞稍后可获得与细胞分裂有关的相对自主性。“促进”是第二阶段，在该阶段，起动细胞虽然还不能认别，但已在刺激下分裂并形成临床上或病理学上能检测到的肿瘤。“恶化”阶段肿瘤对宿主的破坏作用增大并最后摧毁它，该阶段常见广泛的侵入和转移以及摧毁原始正常组织。

3.3 生活方式因素

最终发现人体绝大多数癌症发病的主要原因与生活方式（特别是吸烟和过量饮酒）、不适宜的营养习惯和缺乏锻炼有关。这些生活方式构成要素包括现在已知的遗传毒性致癌物以及非常重要的非遗传毒性致癌物。非遗传毒性致癌物的影响是剂量依赖性的，并且剂量在阈值以下时也是可逆的。因此通过调整生活方式，不仅可以减少相关慢性病如冠心病、高血压及脑卒中和成人发病的糖尿病，而且可以降低人的癌症发病率。很明显，Delaney条款（要求在食物链中完全没有致癌物）对疾病预防毫无用处[5]。Ames和Gold[21]也强调指出了环境污染和人疾病特别是癌症之间的错误观念。吸烟、食谱不均衡、慢性感染和激素因素等所有受生活方式影响的因素，都被认为是癌症发病的主要原因。减少食物链中合成杀虫剂的使用实际上不能降低与日常饮食相关的癌症；反之，大量摄取水果和蔬菜（含抗氧化剂）则有此功效。另外，人们从水果和蔬菜中摄取许多天然的化学物质。尽管只对这些化合物中的一小部分做了致癌性检测，但一半的这些化合物对啮齿动物是致癌物。因此，癌症的预防不应只依据致癌性试验和化学物风险评估，还要从生物医学、公共教育和生活方式的改变等途径获取知识来着手[21]。

4. 改变的必要性

4.1 标准慢性生物鉴定的不足

如果在遗传毒性试验组中（特别是体内研究中）获得了遗传毒性潜在性的明确证据，那么在人方面致癌性的潜在力是很可疑的。在这种情况下，药物开发就要终止。有些在遗传毒性组试验结果是阴性或模棱两可的而在标准慢性生物鉴定结果是阳性的化合物的现象很难解释。

在用于发现致癌物质的潜在性生物鉴定概念提出时，只有相对较少的物质被认为是致癌物。然而在过去的20年，许多研究显示多种实验方法都可以在啮齿动物体内刺激致癌应答，而这些实验方法几乎与人的致癌风险评估没有相关性。在美国NTP项目随机选择的化学物测试中，标准慢性生物鉴定对约50%的化合物显示阳性[22]。生物鉴定经常在大鼠和小鼠甚至一个物种不同品系动物体内识别到不同的靶器官，而且生物鉴定得到的数据常常是互相矛盾的，在不同的组织中同时发生肿瘤的增大和减退[23]。

最大耐受量测试时药物必须在很高的剂量水平上给药。与之自相矛盾的是，较安全的化学药品最大耐受量较高，更有可能是因为发生了生物化学的改变，从而导致细胞损伤或细胞死亡，引起异常的补偿性细胞复制、中毒增生以及毒性诱导的癌症，但这种机制通常与人不相关[24]。对化学药品的动物实验与流行病研究之间的比较研究也显示动物研究用的试验剂量在MTD以上，从而导致的多种器官致癌作用对人没有或只有有限的预测价值[25]。

IARC也提供了慢性生物鉴定缺乏与人相关性的附加证据。IARC工作组评估了几百种药物的致癌性质，然而只确定了20种药物对人致癌，52种是“很可能”或“可能”致癌的[13,14]。对人致癌的药物至少拥有遗传毒性、免疫抑制、激素活性或慢性刺激（细胞毒性/促有丝分裂活性）四种特性中的一种。这些性质可以通过体内遗传毒性研究和在大鼠体内持续6个月的毒理学研究来鉴定[26]。在人体内没有这些作用的原因可能是由于人接触的量低于非遗传效应的剂量阈值或该癌症发病机理对啮齿类动物有特异性。

因此，非遗传毒性化合物与人不相关的现象说明，与人相比，动物接触的量或许过度，或者啮齿动物与人定性应答致癌的反应不同[26]。在机理不同的情况下，常常需要做更多的机理研究以证明与人无关。

4.2 国际协调会议（1991～1997年）

1991年以来，国际协调委员会（ICH）（第一至第四次会议分别于1991年、1993年、1995年、1997年举行）多次召开会议以推动地区间（日本、美国、欧洲）对人用药物在安全性、质量和功效方面做必要条件的协调。管理部门和工业协会都参与了这些讨论。

基于标准慢性生物鉴定的不足以及不断增加的对机理的认识，需要对下列各项要求详细界定：①什么时候需要实施致癌性研究；②在致癌性试验中应用新方法；③剂量选择的指导[27]。表5中详细介绍了这3项安全性事宜。

表 5 致癌性试验的 ICH 论题

S1A. “需要进行致癌性研究”
对于任何药物制剂需要进行预期“至少 6 个月的临床使用”
如有需要推荐：
①已经证明同类产品有与人类相关的潜在致癌性；
②构效关系显示致癌性危险；
③在反复的剂量毒性研究中瘤前病变的证据；
④母化合物或代谢物长期的组织保留导致局部组织反应或其他病理学反应

S1B. “药物制剂致癌性试验”
在途径的选择中要有灵活性和判断力
两个长期致癌性研究（一个在大鼠中及一个在小鼠中）或者一个长期研究加上一个短期的研究（“加一方法”）

S1C. “致癌性研究中的剂量选择”
致癌性研究中剂量选择的标准：
①基于毒性的终点（MTD）；
②药物代谢动力学终点（25 倍 AUC 比率：啮齿动物-人类）；
③吸收的饱和（达到最高暴露）；
④药效学终点（如在高剂量水平的镇静作用）；
⑤最大可用剂量（如最大可达到的溶解度）；
⑥其他额外的终点

如表 5 所示，只有与人体长期接触的化合物才需进行致癌性研究（见 S1A），但如果有致癌的可能，即使不是长期接触的化合物，也推荐进行致癌性研究。ICH 论题 S1B 着重于近代科学方面的发展，而不是国家间的协调工作。过去 25 年间进行的长期啮齿动物致癌性研究的几个大型数据库一致表明约有 50%的化学药品在致癌性测试中呈阳性。这些从药品得到的药物数据库只是以上述标准慢性生物鉴定的缺点为依据的。表 6 对药物数据库进行了概述。

表 6 药物数据库概要

国家及地区	范围	参考文献
IARC（法国）	国际癌症研究署	[13，14]
FDA（美国）	食品药品管理局	[28]
PDR（美国）	医师药物咨询资料库	[29]
JPMA（日本）	日本制药工业协会	[30]
CPMP（欧洲）	人体药物审定委员会	[31]
CMR（英国）	药物研究中心	[30]

ICH 提出了一些主要问题。这包括“为什么用大鼠而不是小鼠导致与人风险评估相关的致癌性信息的丢失?”和“在小鼠（但不是大鼠）中的阳性结果能正确防止非遗传毒性药物上市吗?”[32]。

对数据库进行调查的结果的分析认为大鼠比小鼠更“敏感”，以及从小鼠中观察到的致瘤作用绝不是管理调控的唯一原因。研究发现只在大鼠中出现的结果是只在小鼠中出现的两倍，且所有已知的人致癌物在大鼠中呈阳性[32]。因此，人们提议正常情况下在一种啮齿动物上进行一次长期研究已足够。该种啮齿动物应当适当和方便易得，大鼠是比较合适的选择。欧洲学者认为用大鼠进行一次慢性生物鉴定已足够。但美国学术界认为还要求附加短期研究。短期的模型将在后面的章节作进一步阐释。

最后许多标准都比单独的 MTD 更适合衡量剂量选择（见表 5，S1C）。剂量选择的多种可挑选的衡量标准有助于为致癌性研究设计的最佳化提供更大的灵活性。

未来的致癌性试验

1. 致癌性模型的选择

根据 ICH 的 S1B，“加一方法”（one plus approach）有可能替代大鼠和小鼠身上两年的生物检查。在这个方法中，首先所用的用于一次性长期研究的物种应该精心挑选；其次应选择替代模型，两者的选择都应基于多种选择标准。表 7 中列出了应用于长期研究和替代模型的物种和品系的选择标准，并给出了多种选择性短期模型的介绍。

表 7 ICH 的 S1B “药物制剂致癌性试验”：基本原理

长期研究要选择最适合的物种：
在两种或更多的啮齿动物中进行比较研究
①药理学
②反复的剂量毒性研究
③代谢
④毒物代谢动力学
⑤给药途径
⑥无明显有利的物种存在时，推荐使用大鼠

选择最适宜更替的模型
①转基因啮齿动物（体内）
②新生啮齿动物（体内）
③起始-促进模型（体内）
④叙利亚仓鼠胚胎检测（体外）

续表

优先于其他新方法，关键是对方法进行评估
①是预期的新的、额外的信息吗？
②将向外界公布关注吗？
③在人类中有没有可比较的代谢？
④在人类中有没有可比较的暴露？
⑤在模型的价值和关联性上有没有文献资料或其他的证据？

1.1 转基因小鼠

转基因小鼠可能为开发特异性更好的模型以及减少动物数量和生物鉴定持续时间（6～9个月每天给药）提供有利条件。符合该模型的转基因小鼠包括：①带有可以作为遗传毒性靶向报告基因的转基因小鼠；②带有特异的癌基因的转基因小鼠；③带有多阶段致癌作用过程重要因素的灭活的肿瘤抑制基因小鼠。有的鼠系携带有可以使基因片段沉默或过量表达从而致癌的基因变异，同时这种变异单独存在时不足以造成转变，这样的鼠系模型适合用于鉴别和评估啮齿类和人类的致癌原。符合以上要求的模型包括：

（1）过量表达（原）癌基因的转基因动物，即①表达“v-ras”原癌基因突变的“TG. AC”小鼠系（“皮肤绘画模型”）[33]；②在不同组织表达人“c-Ha-ras”原癌基因突变和扩增的“Tg-rasH2”小鼠系[34]。

（2）缺失某些基因的转基因动物（“基因敲除”动物），如：①表达P53“肿瘤抑制基因”杂合性失活的“P53 +/−”小鼠系[33]（P53对细胞周期控制和DNA修复有决定性作用）；②表达“DNA修复基因”纯合性缺失的“XPA−/−”小鼠系[35]。

1.2 新生小鼠

20世纪60年代已经开展了对新生啮齿类动物的研究。美国和日本对新生啮齿类动物（12个月寿命）进行过广泛研究，并且证明其对遗传毒性致癌物是高度敏感的[36]。

同时，进一步的研究揭示，目前的给药方式为给予年龄为8天和15天的小鼠最大耐受剂量（MTD）或MTD的一半，然后进行12个月的观察。

新生小鼠对肿瘤的易感性已经得到证明，事实表明新生小鼠对化合物的代谢活性正在发育。化学药品经由代谢途径排出的延迟导致其在体内存在的时间延长。致癌物在体内的延期存在将会增加正常细胞变为肿瘤细胞的机会。

1.3 起始-促进模型（体内）

起始-促进模型的原理是为了评价作为“起始物”的物质，该物质将单剂量使用，或者在几天或几星期内给药。经过几星期的清除后，使用一种“促进物”（如苯巴比妥），再经过几个月后检查发生肿瘤前或肿瘤的变化量。

评价一个物质是否可作为“促进物”的程序是相反的。用一种已知的起始物（如二乙基亚硝胺）起始后，在几个月内断断续续地给予不同剂量的研究药物。回过头来看，这个模型对建立致癌作用基础的机制可能是有价值的[17]。

1.4 叙利亚仓鼠胚胎（SHE）细胞转化分析（体内）

在该系统中，正常细胞是从13天的胚胎中分离得到的。该细胞用可以诱导基因改变的致癌剂处理，这些基因改变会导致细胞和集落的形态学改变，从而形成形态学改变的SHE细胞。这些细胞如果不经历附加的遗传改变以获得不死和致瘤作用，它们将开始衰老。该系统的几个中间步骤包括形态学变化、存活、获得致瘤作用和恶化，这些步骤构成了体内新生物变化时观察到的形态变化，并且可能用来解释为什么SHE分析能鉴定啮齿动物致癌物[37]。在SHE分析时，化合物上培养24h到7天，并且将集落形成作为同源转形的终点。

2. 替代模型的评价、认证和实施

Blain及其同事在替代模型的评价和认证方面做了许多详细的工作[38]。认证操作正在美国国立环境卫生研究所、国际生命科学研究所及卫生和环境科学研究所[39]、日本中央环境动物研究所及国立卫生科学研究所以及荷兰公立安全和环境研究所进行。

NTP也正在评价几个有可能用于鉴别和评估致癌物的遗传改变的小鼠种系。研究中发现了许多问题，这不仅为该品系小鼠将来的研究指出了方向，还为如何将基因改变的小鼠包括到综合性测试中提出了可能的解决方案[40]。

在工业上ICH S1B的指南已经履行，并改变了致癌性测试方法以及管理当局的评估方式。指南变得灵活了，同时使工业实体和管理当局使用更科学和基于证据的决定。这些变化预期能显著提高致癌风险评估与人的关联性，但也可能对特殊药物的适当试验策略带来混淆，偶尔会造成不一致[41]。替代试验模型可以用于以下情况：①替换两年啮齿动物的致癌性研究；②在2年研究中发现药物含不确定的致癌性时，可以作为补充确证研究；③作为预试验确定全部致癌性试验的优先顺序；④重复两年啮齿动物的致癌性研究；⑤评估遗传毒性污染物或降解作用的致癌可能性。根据已有信息，已有足够证据表明一些体内转基因啮齿动物致癌性模型可以用于和单独的两年啮齿动物致癌性研究共同作用，补充第2株系研究[42]。那么，证据的加权研究方法是合理的。

3. 证据的研究方法

在致癌风险怀疑的程度上，证据的加权方法应该基于可以利用的所有有致癌性的隐患临床前信息。这些隐患包括致癌性结果、构效关系（SAR）、分类评估、遗传毒性发现、重复剂量毒性的发现、药效学的种间比较、接触和代谢以及预期的临床应用信息、患者数量、给药方法及药代动力学和药效学等的信息。SAR通常指分子的不同特性（通常可计算的）与诱导的生物活性之间的关系。得到的模型能用于预测（估计）生物活性以及致癌性。如Richard[43]

所介绍，多种商业计算机系统可以用于分析 SAR。但是由于过分敏感，SAR 的使用受到限制[43,44]。

Schwetz 和 Gaylor 提出了一种包含替代致癌性模型的证据加权的可能性策略[45]。这项策略根据 SAR 建议提出了替代的观点或毒性和可以提供更多的机理信息遗传毒性研究的发现。

Contrera 和 DeGeorge 提出了含替代模型的证据加权方法应该包括的要素[42]，包括（含替代模型）致癌性研究结果和遗传毒性研究的评价以及在试验模型的安全性和风险利益研究时的评估因素。显然，可以根据各种管理领域，如医药、食品添加剂、环境或工业化学物质[42,45]采用不同的试验。

在实施经典或替代的致癌性生物鉴定开始之前，一种证据加权法是向管理当局提交一份“致癌性试验计划报告”[46]。通过这种方法管理部门和工业界之间可以交换意见，从而在正式的研究工作开始之前就能为研究方法和剂量选择达成一致。

在美国，药物评价和研究中心积极与工业界交换意见以便在关键研究启动前在“方法”和“剂量选择”上达成一致[41]。另外，欧洲医药评价机构及药学和医学产品委员会建立了一种科学建议的程序。该机构专为有关基本原理方面的争议而开设，鼓励公司向 CMPM 提出致癌性试验策略[47]。

4. 将来其他的机会

先于致癌性研究的短中期毒性研究的结果揭示，绝大多数在啮齿动物中诱导肿瘤的非遗传毒性物质也在肿瘤发病的组织诱导其他病理学变化，且在剂量水平时诱导肿瘤。早期变化包括激素水平的改变、离子平衡的破坏和器官增大到特异水平和显著的组织病理学变化[48]。这些发现可以用于非遗传毒性致癌物的早期检测，同时对长期生物鉴定设计试验计划也极有价值。进一步而言，对这些早期指征的全面了解有助于解释致癌作用的特定机理。它与潜在中毒事件的阈限检测一起，可以成为确定致癌性风险评价和致癌物与人接触管理的基础。

基于上述基本原理，药剂“致癌性试验和评估时的分段法”经过细微地改进、缩减或替换后可以应用于致癌性试验。

根据 ICH S1A 指南方案在要求致癌性试验时，首要的建议是对连续的或间歇的与人接触的化合物和有致癌可能的化合物做长期致癌性试验（1 种或 2 种种系动物）。如果不与人长期接触以及没有致癌的可能，那么短期或长期研究可能足够，不推荐做进一步实验[46]。

第二个方案通常用于患者首次临床研究结束时，它假设一种新药不做生物鉴定，需要大量的信息去评估致癌潜在性（体内遗传毒性研究和 3～6 个月毒理学研究中用于评估人体致癌风险因素的可疑研究报告：遗传毒性、免疫抑制、激素活性、慢性刺激或促有丝分裂活性等）。那么这些信息将在与问题药物相关的情况下，鉴别药物在人体中是否引起癌症。如果在这一阶段仍然怀疑有致癌的可能，那么可能得到致癌的、对人体长期不利的信息（例如，在大鼠临床相关剂量水平上进行 12 个月的研究）[49]。

最后的方法着重于化学结构、DNA 反应性、非遗传效应、有限的生物鉴定以及最后“加速的生物鉴定”的应用等五个阶段。加速的生物鉴定需要进行 40 周，并且用于诱导肿瘤的敏感性的标记，与人体致癌性的重要器官的阳性对照组作对比。这使得整个癌发生过程的数据采集朝着发展机理信息的方向进行。这个系统将有可能在某些情况下替代啮齿动物慢性生物鉴定，并且能在第二物种中作慢性生物鉴定的替代[50]。

结论

在 20 世纪，虽然标准慢性生物鉴定仍然还有很多不足，但致癌作用和致癌性试验的概念已获得很大的进展，然而新的致癌性试验策略还有待探索。替代的致癌性模型的验证结果也将可以获得，并且将为最合适的短期致癌性研究带来新的观点。

包括 SAR 和从亚慢性到慢性毒性试验的研究报告（遗传毒性、生殖毒性和器官毒性）在内的致癌性风险的证据加权或层列方法将是主要目标。另外，为达到最佳的科学方法，工业界和管理机构间应尽早进行沟通。

参 考 文 献

1. Van Cauteren, H.; de Kok, Th. M. C. M.; van Schooten, F.-J. Study Unit 12: Introduction to Carcinogenesis. Toxicology: Principles and Applications; Niesink, R. J. M., de Vries, J., Hollinger, M. A., Eds.; CRC Press, Inc. and Open University of the Netherlands: Boca Raton, FL, 1996; 347－383
2. Roe, F. J. C. A Brief History of the Use of Laboratory Animals for the Prediction of Carcinogenic Risk for Man with a Note on Needs for the Future. Exp. Toxic. Pathol. 1998, 50, 271－276
3. Grasso, P., Sharratt M, Cohen A J. Role of Persistent, Non-Genotoxic Tissue Damage in Rodent Cancer and Relevance to Humans. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1991, 31, 253－287
4. Weissburger, J. H. The 37-Year History of the Delaney Clause. Exp. Toxic. Pathol. 1996, 48, 183－188
5. Weissburger, J. H. Human Protection azgainst Non-Genotoxic Carcinogens in the US without the Delaney Clause. Exp. Toxic. Pathol. 1996, 48, 201－208
6. Weissburger, E. K. History of the Bioassay Program of the National Cancer Institute. Progr. Exp. Tumor Res. 1983, 26, 187－201
7. Inveresk Research International. Rodent Carcinogenicity and Chronic Toxicity. A Review of Test Protocols for Pharmaceu-

ticals, Agrochemicals, Food Additives and Industrial Chemicals According to European, American and Japanese Guidelines. Regulatory Guidelines 1990, 1, 1—13

8. Feron, V. J. Schwarz M, Hemminki K, Krewski D. Long-and Medium-Term Carcinogenicity Studies in Animals and Short-Term Genotoxicity Tests, IARC Scientific Publications, No. 131; International Agency for Research on Cancer: Lyon, 1999; 103—129
9. Portier, C. J. Design of Two-Year Carcinogenicity Experiments: Dose Allocation, Animal Allocation and Sacrifice Times. Stat. Toxicol. 1991, 457—469
10. Statistical Methods in Cancer Research. The Design and Analysis of Long-Term Animal Experiments; Gart, J. J., Krewsky, D., Lee, P. N., Tarone, R. E., Wahrendorf, J., Eds, No. 79 IARC Scientific Publications; 1986; 3
11. Ciminera, J. L, Allen H. L. Carcinogenicity Testing. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Marcel Dekker, Inc. : New York, 1998; 285—317
12. Velasquez, S. F.; Schoeny R., Rice G. E., Cogliano V. J. Cancer Risk Assessment: Historical Perspectives, Current Issues, and Future Directions. Drug Chem. Toxicol. 1996, 19 (3), 161—185
13. Marselos, M.; Vainio H. Carcinogenic Properties of Pharmaceutical Agents Evaluated in the IARC Monographs Programme. Carcinogenesis 1991, 12 (10), 1751—1766
14. Vaino, H, Coleman M, Wilbourn J. Carcinogenicity Evaluations and Ongoing Studies: The IARC Databases. Environ. Health Perspect. 1991, 96, 5—9
15. Purchase, I. F. H. Current Knowledge of Mechanisms of Carcinogenicity: Genotoxins Versus Non-Genotoxins. Human Exp. Toxicol. 1994, 13, 17—28
16. Shaw, I. C, Jones, H. B. Mechanisms of Non-Genotoxic Carcinogenesis. TIPS March 1994, 15, 89—93
17. Van Cauteren, H,; de Kok Th M C M.; van Schooten F. -J. Study Unit 13. Cancer Risk Evaluation. Toxicology: Principles and Applications; Niesink, R. J. M., de Vries, J., Hollinger, A., Eds.; CRC Press, Inc. and Open University of the Netherlands, 1996; 384—412
18. Williams, G. M.; Whysner, J. Epigenetic Carcinogens: Evaluation and Risk Assessment. Exp. Toxic. Pathol. 1996, 48, 189—195
19. Fearon, E. R.; Vogelstein, B. A Genetic Model for Colorectal Igenesis. Cell 1990, 61, 759—767
20. Couch, D. B. Carcinogenesis: Basic Principles. Drug Chem. Toxicol. 1996, 19 (3), 133—148
21. Ames, B. N.; Gold, L. S. Environmental Pollution, Pesticides, and the Prevention of Cancer: Misconceptions. FASEB J. 1997, 11, 1042—1052
22. Ashby, J.; Tennant, R. W. Prediction of Rodent Carcinogenicity for 44 Chemicals: Results. Mutagenesis 1994, 9 (1), 7—15
23. Davies, T. S.; Monro, A. M. The Rodent Carcinogenicity Bioassay Produces a Similar Frequency of Increases and Decreases: Implications for Risk Assessment. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1994, 20, 281—301
24. Carr, C. J.; Kolbye, A. C. A Critique of the Use of the Maximum Tolerated Dose in Bioassays to Assess Cancer Risks from Chemicals. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1991, 14, 78—87
25. Meijers, J. M. M.; Swaen, G. M. H.; Bloemen, L. J. N. The Predictive Value of Animal Data in Human Cancer Risk Assessment. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 25, 94—102
26. Monro, A. How Useful are Chronic (Life-Span) Toxicology Studies in Rodents in Identifying Pharmaceuticals that Pose a Carcinogenic Risk to Humans? Adverse Drug React. Toxicol. Rev. 1993, 12 (1), 5—34
27. Usui, T.; Masuda, H. Testing for Carcinogenicity of Chemicals: S1, A—Conditions which Require Carcinogenicity Studies for Pharmaceuticals; S1, B—Use of Two Rodent Species; S1, C—Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals. J. Toxicol. Sci. 1996, 21, 475—478
28. Contrera, J. F.; Jacobs A C, DeGeorge J J. Carcinogenicity Testing and the Evaluation of the Regulatory Requirements for Pharmaceuticals. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 25, 130—145
29. Davies, T. S.; Monro, A. Marketed Human Pharmaceuticals Reported to be Tumorigenic in Rodents. J. Am. Coll. Toxicol. 1995, 14 (2), 90—107
30. Usui, R.; Griffiths, S. A.; Lumley, C. E. Industry Viewpoint: The Utility of the Mouse for the Assessment of the Carcinogenic Potential of Pharmaceuticals. Proceedings of the Third International Conference of Harmonization; Yokohama, D'Arcy, P. F. Harron, D. W. G., Eds, The Queen's University, Belfast, 1996; 279—284
31. Van Oosterhout, J. P. J.; Van der Laan, J. W.; De Waal, E, J.; Olejniczak, K.; Hilgenfeld, M.; Schmidt, V.; Bass, R. The Utility of Two Rodent Species in Carcinogenic Risk Assessment of Pharmaceuticals in Europe. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 25, 6—17
32. Monro, A. Testing for Carcinogenic Potential. Rapporteur's Report Proceedings of the Third International Conference of Harmonization Yokohama, D'Arcy, P. F, Harron D. W. G., Eds, The Queen's University; Belfast 1996; 261—268

33. Tennant, R. W.; Spalding, J.; French, J. E. Evaluation of Transgenic Mouse Bioassay for Identifying Carcinogens and Non-Carcinogens. Mutat. Res. 1996, 365, 119—127
34. Yamamoto, S.; Mitsumori, K.; Kodama, Y.; Matsunuma, N.; Manabe, S.; Okamiya, H.; Suzuki, H.; Fukuda, T.; Sakamaki, Y.; Sunaga, M.; Nomura, G.; Hioki, K.; Wakana, S.; Nomura, T.; Hayashi, Y.; Rapid Induction of More Malignant Tumors by Various Genotoxic Carcinogens in Transgenic Mice Harbouring a Human Prototype c-Ha-ras Gene than in Control Non-Transgenic Mice. Carcinogenesis 1996, 17, 2455—2461
35. De Vries, A.; Van Oostrom, C. T. M.; Dortant, P. M.; Beems, R. B.; Van Kreijl, C. F.; Capel, P. J. A.; van Steeg, H. Spontaneous Liver Tumors and Benzo (a) pyrene-Induced Lymphomas in XPA-Deficient Mice. Mol. Carcinog. 1997, 19 (1), 46—53
36. Flammang, T. J.; Von Tungeln, L, S.; Kadlubar, F. F.; Fu, P. P. Neonatal Mouse Assay for Tumorigenicity: Alternative to the Chronic Rodent Bioassay. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 26, 230—240
37. LeBoeuf, R.; A.; Kerckaert, K. A.; Aadema, M. J.; Isfort, R. J. Use of Syrian Hamster Embryo and BALB/c 3T3 Cell Transformation for Assessing the Carcinogenic Potential of Chemicals. IARC Scientific Publications; No. 146; McGregaro, D. B., Rice, J. M., Venitt, S., Eds, Lyon, 1999; 409—425
38. Blain, P. G.; Battershill, J. M.; Venitt, S.; Cooper, C, C.; Fielder, R. J.; Consideration of Short-Term Carcinogenicity Tests Using Transgenic Mouse Models. Mut. Res. 1998, 403, 259—263
39. Robinson, D. The International Life Sciences Institute's Role in the Evaluation of Alternative Methodologies for the Assessment of Carcinogenic Risk. Toxicol. Pathol. 1998, 26 (4), 474—475
40. Bucher, J. R. Update on the National Toxicology Program (NTP) Assays with Genetically Altered "Transgenic" Mice. Environ. Health Perspect. 1998, 106 (10), 619—621
41. DeGeorge, J. Challenges in Application of New Approaches to Carcinogenicity Testing for Pharmaceuticals. Toxicol. Lett. 1998, 102—103, 565—568
42. Contrera, J. F.; DeGeorge, J. J. In Vivo Transgenic Bioassays and Assessment of the Carcinogenic Potential of Pharmaceuticals. Environ. Health Perspect. 1998, 106 (1), 71—80
43. Richard, A. M. Structure-Based Methods for Predicting Mutagenicity and Carcinogenicity: Are we there yet? . Mutat. Res. 1998, 400, 493—507
44. Benigni, R. The First US National Toxicology Program Exercise on the Prediction of Rodent Carcinogenicity: Definitive Results. Mutat. Res. 1997, 387, 35—45
45. Schwetz, B.; Gaylor, D. New Directions for Predicting Carcinogenesis. Mol. Carcinog. 1997, 20, 275—279
46. Van Deun, K.; Van Cauteren, H.; Vandenberghe, J.; Canning, M.; Vanparys, P.; Coussement, W. Review of Alternative Methods of Carcinogenicity Testing and Evaluation of Human Pharmaceuticals. Adverse Drug React. Toxicol. Rev. 1997, 16 (4), 215—233
47. Van der Laan, J. W. New Perspectives for Alternative Approaches to Carcinogenicity Testing: A Regular Viewpoint. Toxicol. Lett. 1998, 102—103, 561—564
48. Hildebrand, B.; Grasso, P.; Ashby, J.; Chamberlain, M.; Jung, R.; van Kolfschoten, A.; Loeser, E.; Smith, E.; Bontinck, W. J. Validity of Considering that Early Changes may Act as Indicators for Non-Genotoxic Carcinogenesis. Mutat. Res. 1991, 248, 217—220
49. Monro, A. Are Life-Span Rodent Carcinogenicity Studies Defensible for Pharmaceutical Agents? Exp. Toxic. Pathol. 1996, 48, 155—166
50. Williams, G. M.; Iatropoulos, M. J.; Weisburger, J. H. Chemical Carcinogen Mechanisms of Action and Implications for Testing Methodology. Exp. Toxic. Pathol. 1996, 48, 101—111

（张 辉 祝 林 译）

Z

质量体系管理

Gary C. Harbour
Pharmacia Enterprises S. A., Luxembourg-G. D., Luxembourg
Robert G. Kieffer
RGK Consulting, Palm Desert, California, U. S. A.

引言

无论在什么工业，质量管理总是一项关键的管理工作。在如今的制药工业中，实现产品、服务和过程的质量管理与以往同样重要，然而，现今我们需要用更少的资源实现这些目的。我们需要用更少的资源做更多的事，需要同时关注质量体系的效率和有效性。不断提高的管理机构和消费者的需要使得这项任务更有挑战性。

在本文中，我们将定义质量体系的组成，展示多种质量体系模式的优点和缺点：药品 GMP 规范、医疗器械质量体系规则、ISO 9000、Malcolm Baldrige 奖标准。除了指导质量体系的规划，我们将描述一些已发现的对管理有效的方法。

质量体系

传统的制药工业，质量职能被分为两大部分：质量控制和质量保证。质量控制的职责是检测产品以确认符合标准，这通常是评价已过去的事件。FDA 已意识到这样的缺陷，并常引用一句话“质量并不是检验出来的”。质量保证的重点是，通过验证、工艺和环境控制及文件，将质量贯穿至产品的整个过程。质量保证通常是关注现在的事件。直到最近制药行业才开始强调质量管理的责任在于不断改进的程序、人员和文化。质量管理是关于未来，旨在预防，改进质量体系是管理者的任务。

一个体系是各部分、组成或过程的组合，他们共同工作以实现目标。对于质量体系，通常的目标是理解和满足消费者的需要，其组成是程序、人员和文化（图 1）。体系包含以下四种类型的程序：

（1）管理　管理程序是最重要的，一些对质量体系很关键的管理程序有：政策交流，标准、趋势、目标的传达，组织机构的优先，对质量体系的完好及改进的需要进行周期性的评估，建立质量文化和确保足够资源的有效性。

（2）核心　核心程序是指生产产品的过程，这些产品是提供给消费者的。对于核心过程中的每一步，必须确定关键控制点或变量及这些变量可接受的标准。控制可以是生产过程中在线控制，或者由质量控制实验室检测。核心程序的质量主要依赖于过程的设计和验证，即在于它内在的能力。

（3）支持　在 GMP 药厂，关键的支持程序有：审计、变更控制、不合格调查、标签（制版、标签使用和控制）、维护、物料管理、用户意见处理、产品放行、稳定性/失效期限、培训、趋势分析和验证。支持程序根据它对核心程序的贡献按比例增加其价值。

（4）供应者　供应者的程序对于核心程序发挥正常作用是最基本的。核心程序的质量很大程度上依赖于所购买的原材料和包装材料的质量。目标是与供应商建立合作伙伴关系，供应商自身过程的质量直接影响核心过程的质量。



图 1　质量体系组成

由于工作是通过过程而完成的，因此关注过程质量是重要的。成品的质量依赖于过程质量和从过程改进中所获取的效率，我们必须记住“强大的人也不能通过漫长的努力弥补弱小的过程。管理往往会依赖于个人或小组骨干克服根本上有缺陷的过程”。[1]过程的主要组成见图 2，最重要的组成是所有权，即过程是被积极地管理着。人们通常发现部门被管理着而过程却没有。对内在过程和支持过程，输入和输出通常都是信息，这些信息由内部供应商提供，并由内部客户使用。过程中的活动应当添加价值，但经常会发现制药企业中无价值添加的活动超过 25%。

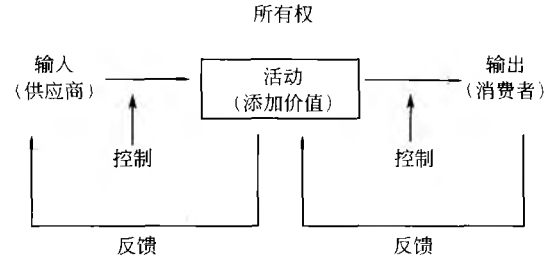


图 2　过程模式

质量体系的第二个组成是人员，我们已有了适宜的过程，还需要有必备知识和技能的人。我们不得不雇佣和提拔有潜在能力、更重要的是有正确态度的员工。我们需要发挥他们最大的潜能。如果我们有高效的标准，所有职工都将被培训，且必须优先进行。决定培训需要和优先次序的工具见文献 [2]，对于培训必须给予足够的时间和财力。世界一流公司每年每人约有 100h 的培训时间。如果提高绩效是培训的目的，它的作用就必须要通过成效的观察或商业业绩的改进来评估。

质量体系的第三个组成是文化，有了适宜的过程和富有技能的员工，管理需要创造一种文化，它可以培育所需要的行为，可以发挥员工对工作出色而感到自豪这种内心自然的动机，以下是质量文化的一些方面：

- 对所希望的将来和如何实现有明确的设想；
- 管理导向举例：如果质量是首位的，那么在管理议程中它就是首位的，并因此作出决定；
- 成绩标准是高的，员工对他们的行为负责，所取得的业绩要经常反馈，重点是积极的反馈；
- 在工作场所应无所畏惧，鼓励革新和改进，同时理解有时发生的错误；
- 每个人得到尊重，尽其所能参与到组织管理中；
- 组织和个人均要重视学习；
- 培育团队合作；
- 提供足够的资源。

质量体系的模式

FDA 对药品的制造规范是于 1978 年 9 月 29 日发行的《联邦注册》43 卷 190 页针对成品药的现行药品生产质量管理规范。自从 1978 年以来出版的现行药品生产质量管理规范（cGMP）和各类指南提供了在美国市场销售的药品必须遵守的生产规范。cGMP 并不是质量体系最好的模式，也不是按照体系来构架的，而是一套特定的规定。在这个意义上，cGMP 强调了符合性，却没能对合适的质量体系给出定义。在这其中有明显的缺陷、奇想和遗漏。cGMP 的基本原理是 20 世纪 50 年代和 60 年代的质量理论：控制、检查，并不信赖生产，质量控制/质量保证部门对质量负责[3]。

FDA 对医疗器械的质量体系规则是一种好的质量体系模式[4]，它建立在 ISO 9000 的基础上，是建立在现代的最新的质量管理理论之上。他们认为质量是完整的体系，管理对质量负责，强调设计和质量规划的重要性[3]，而且 FDA 对医疗器械厂的检查也是建立在此基础上[5]。

我们对制药企业的质量体系所推荐的模式是 ISO 9000：2000，同时再增加 cGMP 中对药品的特殊规定。ISO 提供了质量管理体系的要求，而 cGMP 中给出了符合性的要求，ISO 9000：2000 版描述了目前最好的对质量的思想及如何去实现它[6]。在表 1 中所列的质量体系原理描述了建立质量体系的基本理论。

表 1 质量管理原理

顾客至上
领导能力
人员介入
程序
体系管理
持续改进
按实际决策
与供应商的相互利益关系

图 3 显示了 ISO 的质量体系，ISO 9000 强调高层管理对于实现产品和过程质量的至关重要性，在文件中有详尽描述。除了注重体系和过程，ISO 强调了文化和环境的重要性。“通过领导和行动，高层管理可以创造一种环境，使得员工能够全身心地投入，并且在这样的环境中质量管理体系能够有效地运行”。

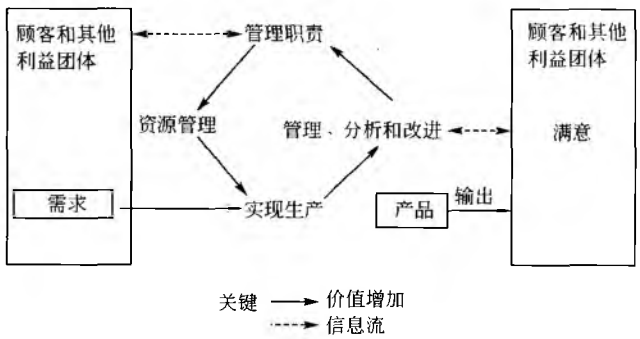


图 3 质量管理体系的不断改进

Malcolm Baldrige 质量奖代表了更高的标准[7]，这个奖项非常广泛，包括了各行各业，它的核心价值和理念类似于 ISO 9000。表 2 中是该奖的分类项及对应的分值。

表 2 Malcolm Baldrige 分类项及对应的分值

分类项	分值
领导	120
战略规划	85
顾客与市场	85
信息与分析	90
人力资源	85
过程管理	85
经营结果	450

应注意，经营结果占了很大的比重，这个奖项的获得者通常得分是 700。即便你的组织不想为了申请该奖项而付出代价，但它仍为企业自评提供了有用的工具，也是打分的工具。

回顾了 ISO 和 Malcolm Baldrige 质量奖或欧洲质量奖这些质量体系模式，很显然，cGMP 要成为真正的质量体

系是有缺陷的，它们缺少许多质量体系中的基本要素，例如领导、计划、过程导向和持续的改进。所导致的必然结果就是有时担心，制药行业受到严格管制以至于像 ISO 这样优秀的质量体系都不能提供足够的保障。然而，所有优良的质量体系的中心都是顾客，不断地确定顾客的需求并满足顾客的期望，那些理解并贯彻执行质量体系的公司将能满足顾客不断调整的需求。

质量计划过程

为了持续改进质量体系，必须确立质量计划过程，这个过程的目的是：

- 从短期和长远角度，相对于所期望的质量体系来评价目前的质量体系；
- 创建行动计划和合理调配资源，从而获得质量体系中所期望的改进；
- 依照计划监控和评估表现；
- 按需要调整计划。

图 4 中显示了质量计划过程。这个计划过程显示了在持续改进循环（图 5）中的第一个四步曲，持续改进循环将在“质量改进过程”中论述。

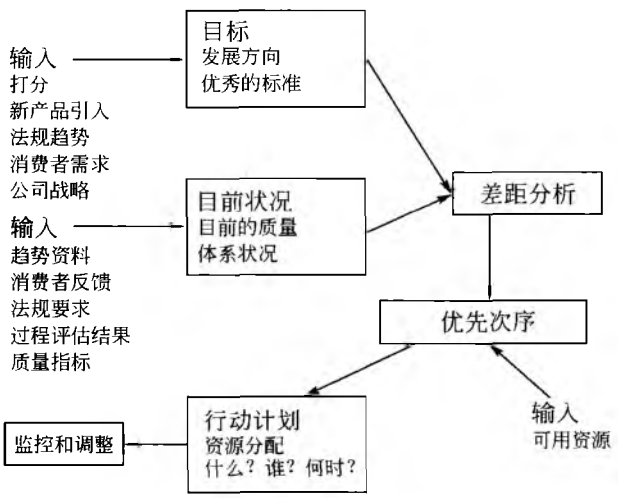


图 4 计划过程

质量计划过程首先要建立有竞争性的标准，并创建可确保成功并激发所有员工的卓越远景。创建所期望的未来最重要的就是打分，即经营和质量的目标以及能够实现这些目标的过程。可以基于最好的内部表现，甚至是其他制药企业。然而，一些最好的质量规范并不是在制药企业，而是在其他行业。美国质量协会出版的书籍和杂志是最佳质量规范的良好来源，在 Malcolm Baldrige 获奖者那同样可以学到很多。

第二步就是准确而公正地评价目前的状况。进行过程评估已证实是有效的工具[8]，这个方法明显不同于传统的顺从性审计。它关注效率以及达到标准的有效性，透过外观或现象寻找根本原因，也关注过程的质量及其产出。借用 Malcolm Baldrige 奖中的评估：

（1）方法（过程设计和过程所有权）；

（2）展开（培训、资源分配和部门、其他过程的整合）；

（3）结果（持续改进绩效）

一旦所期望的目标已确定且现状也已评估，差距分析就完成了，目标设定在消除差距。过程中重要的一步就是在平衡可用资源和风险的基础上将目标区分优先次序。计划的编制是参与性的活动，理想情况下涉及最多的人。在计划建立之后，个人和团队的执行目标需要与计划目标相一致。最终，使质量计划与经营计划一体化，这是必须的。

“可衡量即可完成”。质量体系的健康状况和质量计划的执行效力需要被监控。因此选择正确的质量标杆是重要的[9,10]，传统质量成本被细分为预防、评估、内部故障和外部故障成本。通常有效的内部故障成本的间接测定方法是首次不正确时间法。周期时间法是另一种有效的间接质量测定法。过程质量可以测定[8]。过程可被分为 1～5 级：

（1）过程及所属权未确定，人员未经过培训，结果显示过程无效；

（2）过程及所属权已确定，人员经过培训，过程标杆已建立，但过程未能始终遵循，结果需要改进以符合最低标准；

（3）过程持续遵循，结果令人满意；

（4）过去的两年中过程在有效性和效率、周期时间等方面持续改进，不会出错；

（5）基于打分，过程被认为世界一流。

对于每一个关键过程，都需要建立一套标准，这些过程衡量标准包括了过程成本、效力、首次正确和顾客满意度。举例说明变更控制过程：

- 周期时间；
- 变更发生对产品无负面影响；
- 每年成功执行的变更数；
- 客户和员工对变更控制过程的满意度；
- 文件完善程度。

质量衡量标准需要汇报给管理者，以使他们可以确定质量体系的健康状况以及需要采取何种行为来改进。衡量标准和他们选择极端重要。“人们需要得到他们究竟处在什么位置的评价，需要知道他们将改进质量的起点”[11]。

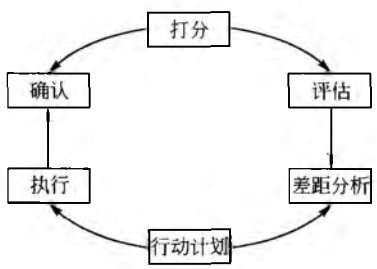


图 5 持续的改进过程

质量改进过程

连接质量计划和质量改进之间的是执行。持续的改进周期开始于标准的建立和内部评估以获得差距分析（图5）。从差距分析开始，一个有指定领导、资源、日程和标准的行动计划就建立了。从这个质量计划开始，工厂的人力资源为了促进改进，必须成功地执行计划。领导的责任是确保计划是“可执行的”、分配适当的且有足够的资源以及工厂的文化可支持变革。这些都从项目负责人开始。项目负责人不仅要有专门技能，而且还要有项目管理和人员技能以完成项目。为质量改进而进行的适当技能培训可从许多咨询公司获得，通常称这个概念称为6σ，受过这些技能培训的人们通常称之为黑带（Black Belts）”。

一旦项目已经完成，且下定决心要成功达到一定标准，此时管理应通过奖励团队和认可成绩以加强持续改进的文化。最好工厂能将改进带来的节省经费部分重新投入到其他的改进机会中。

质量体系中的责任

质量必须是每一位员工的责任，质量部门永远不可能将质量强加在产品和过程中，相反，工厂的管理团队必须通过他们的行动，使得每位员工对他们工作的质量负责，管理者必须逐一确保所有的员工都理解这样的需要，拥有必要的技能，并有足够的时间和资源来进行他们的工作。

一些关键管理人员的特定职责如下：

（1）工厂经理，质量总负责人

- 通过他的领导行为，建立质量是每个人的责任的设想；
- 在整个机构中建立以顾客为中心的质量文化，建立持续改进，建立对质量的责任感；
- 确保提供适当的资源给质量管理和执行；
- 使质量计划成为工厂计划过程的主要组成；
- 对质量成效给予承认和奖励。

（2）质量经理

- 拥有体系/过程的评价程序；
- 促进体系/过程设计和团队改进；
- 确保组织能适应外部环境的改变；
- 在组织内培育所需要的质量知识和技能；
- 说明法规要求和客户的需要；
- 确保组织履行质量/法规要求的责任。

（3）生产经理

- 确保程序按照设计的去执行、测定、控制和记录；
- 对劳动力提供机会去确定和改进过程的质量和效率；
- 找到失败的根源，采取预防措施。

（4）工程经理

- 准备适当的、经校准的、经验证的、受控制的、有文件记录和有维护的基础设施；
- 对改进过程提供技术支持。

（5）所有职员

- 关注客户，内部和外在；
- 持续改进个人过程；
- 对每个人工作的质量负责。

领导和管理

我们已经知道了，ISO 9000 和 Malcolm Baldrige 奖标准都在质量体系的建立、维护和改进方面重视高层管理的角色，根据 Malcolm Baldrige 奖，有远见的领导应是：

- 设定方向；
- 以顾客为中心；
- 建立明确的价值观；
- 设定高的期望；
- 建立战略和体系以获得卓越、激励创新、培育知识和能力；
- 鼓舞激发劳动力；
- 鼓励所有的员工奉献、发展和学习、改革和创新。

为了将这些领导的目标得以实践，我们已在每个工厂建立了质量管理团队（QMT）[12]，QMT 包括了整个工厂的管理团队：质量、生产、工程、技术支持、人力资源和财务。工厂经理领导 QMT，表明了他们对于质量的责任，这是因为他们有权力确保所有职工遵守质量准则，QMT 的目的在于：

- 给工厂管理者提供平台以训练他们对适当有效的质量体系建立和维护的职责；
- 通过关注过程、人员和文化，培育合作关系以维持质量中的不断改进；
- 共同计划对商业行为的质量规范的改进，拥有质量计划。

质量管理团队每月至少会面 1h，每季要有更多的时间进行全面的质量体系和质量计划的回顾。

结语

质量基本上是以顾客为中心，制药行业和 FDA 都有共识：他们的顾客是患者。质量控制和质量保证是重要的，现今最好的质量规范强调质量体系的管理，质量体系包括了重要过程、高技能员工、信任/激发的文化。人员培训在各个层次都是管理的优先考虑。质量体系的推荐模式是 ISO 9000，再加上 GMP 中的特殊需要。持续的质量体系改进是通过有效的质量计划过程而确保。所有职员必须对他们工作的质量负责，一个关键但有难度的过程是沟通。管理必须提供方向（从上向下），倾听（从下向上），鼓励交叉功能的合作，质量依靠组织的领导者，这一点是明确的。

Z

参考文献

1. Rummler, G. A.; Brache, A. P. Improving Performance—How to Manage the White Space on the Organization Chart; Jossey-Bass: San Francisco, CA, 1990; 46—47.
2. Kieffer, R. G.; Stoker, J. R.; Nally, J. D. The Knowledge and Skills of the Successful QA/QC Manager. Pharm. Technol. 1998, Jan, 70—78.
3. Kieffer, R. G. Global Trends, Needs, Issues. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1998, July-August, 151—153.
4. Federal Register, Vol. 61, No. 195, October 7, 1996, 52655—52662.
5. Guide to Inspections of Quality Systems, Food and Drug Administration: Washington, D. C., August 1999.
6. ISO 9000 International Standard, American Society for Quality: Milwaukee, WI.
7. Baldrige National Quality Program, National Institute of Standards and Technology: Gaithersburg, MD.
8. Nally, J.; Kieffer, R. G.; Stoker, J. R. From Audit to Process Assessment—The More Effective Approach. Pharm. Technol. 1995, Sept, 128—140.
9. Kieffer, R. G.; Stoker, J. R. Quality Performance Measurement and Reporting. Pharm. Technol. 1986, June, 54—58.
10. Stoker, J. R.; Kieffer, R. G. QA/QC Effectiveness and Efficiency. Pharm. Technol. 1997, Mar, 134—144.
11. Karl Albrecht, Chairman Karl Albrecht International, personal communication.
12. Harbour, G. C.; Kieffer, R. G. Quality Management Team (QMT)—Managing the Quality System. Pharm. Technol. 2000, Oct, 152—158.

（傅 民 译）

Z

直接压片

Larry L. Augsburger
University of Maryland, Baltimore, Maryland, U. S. A.
Norman Anthony Armstrong
Welsh School of Pharmacy, Cardiff University, Cardiff, U. K.

引言

所有片剂都是通过压制压片机的冲模中两个冲头间的特定固体而制成的。对一个活性成分而言，要制成质量满意的片剂，该处方必须满足三个基本特性：

(1) 该处方的颗粒必须迅速和重现地流入压片机冲模，否则，片重和主药含量的差异会超过允许范围。

(2) 在施加压力时处方颗粒必须黏结，并在压制力除去后仍能保持黏结状态。

(3) 片剂压制完成后必须能从压片机移出而不损伤片剂或压片机。

活性成分极少同时具备上述三个基本特性，有的甚至一个特性都不具备。因此，对其进行某些预先处理几乎总是必需的。

片剂制造方法

有三种片剂制造方法可使片剂处方满足上述基本特性。湿法制粒和直接压片是最重要的，在有些复杂情况下还有干法制粒（也称为预压法或干挤压法）。图 1 显示了湿法制粒压片和直接压片的分步工艺。

显而易见，直接压片过程相对比较简单。

至少从理论上讲，压制成的片剂很容易从压片机上迅速移开，处方中的润滑剂消除了片剂与压片机冲模之间的摩擦力。因此，不管哪种制片方法，任何压片处方都含有润滑剂。润滑剂通常是一些脂肪酸的金属盐，如硬脂酸镁。

另外两个先决条件——流动性和黏结性，只能由更复杂的技术来获得，实际上，这也是人们为什么设计湿法制粒和干法制粒的理由。

作为整个复杂工序的一部分，湿法制粒包括加入液体（通常是水），然后再除去液体，一般是通过蒸发干燥的方法除去。干燥过程不仅需要能源，而且可能造成活性成分的水解，干燥时温度的上升会加剧水解。

如果处方中的主要成分如稀释剂有足够好的流动性和可压性，制粒过程就不一定需要，这也是直接压片方法的基础所在。

20 世纪 60 年代早期之前，很少有物料具有这些性质。Little 和 Mitchell[1]在他们的《片剂制造》一书中提到氯化钠、溴化钠、氯酸钾、碳酸氢钠、碘化钠、氯化铵、六亚甲基四胺等具有上述性质而不必预先处理。但没有资料明确提到直接压片工艺。

几乎与此同时，在 1962 年和 1964 年，分别出现了两种专门用作片剂稀释剂的材料：喷雾干燥乳糖和微晶纤维素，它们压片前不必预处理，这两种材料可以说是引发了“直接压片革命”。从此，出现了大量的直接压片稀释剂，本文的后面将回顾这些材料的特性。

区别真正的直接压片稀释剂（如赋形剂）与直接压片形式的活性成分是很重要的。有些高剂量药物如阿司匹林、扑热息痛、抗坏血酸，它们可以直接压片，其预处理仅仅是与润滑剂或崩解剂混合。然而，这些物质确切地说是“预制粒”，因为制粒过程（干法或湿法）在赋形剂制造过程中已经完成。“预制粒”很可能其本身含有黏合剂，如市售的抗坏血酸与淀粉或羟丙基纤维素预制粒[2]。

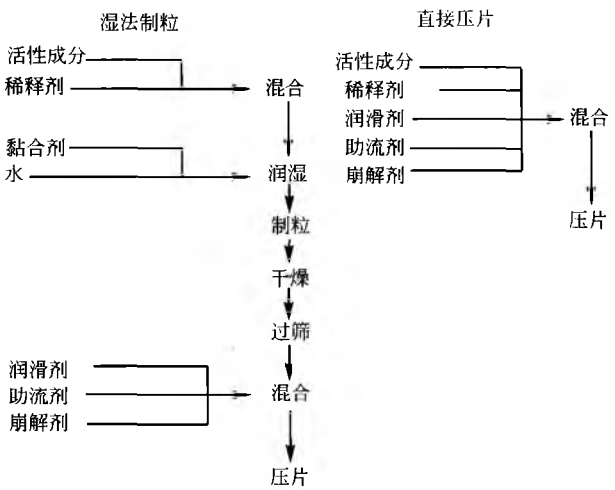


图 1 湿法制粒与直接压片工艺的比较

有大量文献报道直接压片工艺的优越性，1970～2000 年，在国际药学文摘索引（*International Pharmaceutical Abstracts*）上有 598 篇关于直接压片的文献。据估计，自首次专门用于直接压片的稀释剂出现至今约 40 年间，世界范围内约有 50%的片剂产品采用了直接压片工艺[2]。有人要问为什么直接压片具有如此多明显的优越性，又有大量适用的材料，却没有形成更大的影响？制药工业中固有的保守主义或许是个因素，但不是全部答案。有趣的是，相类似的片剂的薄膜包衣工艺，与直接压片同时出现，现在实际上已取代了糖衣技术。这表示一个新的工艺如果是很

大的进步，就会显著地快速进入工业应用领域。

Z

1. 湿法制粒工艺：优点和不足

湿法制粒工艺是传统的片剂制造方法，在制药工业频繁使用，其所需设备和专门知识也可以广泛获得。这种工艺可提高流动性和黏结性，减少粉尘和交叉污染，允许粉末均匀混合。

虽然已应用了许多年，也许因此被认为是“老式的”工艺。但必须记住近几十年来，湿法制粒工艺的本身正发生转变。高速混合制粒机、流动床制粒并干燥、自动化程度的日益提高等使湿法制粒工艺比以往更高效、更经济[3]。

然而，湿法制粒工艺仍然存在着许多先天的缺陷。这些不足包括黏合剂的选择和加入方法，干燥时间和温度对药物稳定性和分布的影响。

2. 直接压片工艺：优点和不足

直接压片工艺最显著的特点是它的简单和由此而来的经济性，设备和工艺步骤大大地减少了，但每个步骤都需要验证。直接压片过程仅需较低的劳动力成本，减少了工艺生产时间，降低了能耗。

直接压片一个重要的优点是工艺过程始终是干的状态，不需要干燥步骤，因此避免了与水接触和加温除水的过程，从而降低了活性成分被破坏的风险。

直接压片另一个优点是片剂崩解成原来的颗粒，而不是制粒时形成的团状。这样提高了溶出的表面积，可加快药物的溶出速率。

直接压片工艺的主要限制在于片剂稀释剂的流动性和可压性。因此，它不能用作药理活性低剂量高的活性成分的处方，否则，必须加入太多稀释剂而导致片剂过大而无法接受。因此，有些活性成分如阿司匹林和扑热息痛，其本身不可用于直接压片，但如前所述，我们经常能获得其“预制粒”的形式。

自相矛盾的是，造成直接压片困难的根本原因之一正是它的工艺简单。直接压片尽管简单，本身也是一个工艺过程，而不是湿法制粒工艺的简化形式。要抓住的关键在于湿法制粒产生了新的“原料”如颗粒，这些颗粒成分由于“渗入”大量的黏合剂而掩盖其组分性质的微小变化。这与直接压片结果不同，直接压片中的颗粒每个组分都保持了原来的性质基本未改变。因此，更需要注意批内和批间的均匀性。

直接压片过程中还存在处方中活性成分与赋形剂在混合均匀后重新分离的可能性，而湿法制粒中由于黏合剂的作用分离的可能性被大大减少了。分离的主要原因是活性成分与赋形剂粒径不同，最理想的情况是稀释剂的粒径与药物粒径相匹配，但情况经常不是这样。

直接压片工艺的简单很明显带来经济上的益处。但同时必须记住：直接压片稀释剂明显比传统稀释剂如 α-乳糖一水物要贵得多。

在决定是否使用直接压片工艺时还要考虑法规上的事项。从片剂处方的最后确定到上市要好几年时间，在此期间，将进行产品稳定性试验。处方设计者必须确信所选择的直接压片稀释剂在产品上市后的相当长的时间内仍可得到，否则，修改处方需要时间和费用。很多直接压片稀释剂上市几年后由于缺乏市场渗透而撤出。

产品的开发进程伴随着将活性成分制造工艺放大到商业化规模。这也导致活性成分物理性质的变化。如前所述，湿法制粒工艺能承受物理性质的轻微变化带来的影响，而直接压片工艺则不能。

由于这些原因，直接压片最广泛地由仿制药（非创新性的）制造商采用。在活性成分药物的专利保护期，就可获得最佳的制造工艺，因此，随后的批与批之间物理性质的变化应该是最小的。

影响选择直接压片稀释剂的因素

市场可供应的直接压片稀释剂的范围很广，一般来说，改善现有的常用材料的流动性和可压性，满足直接压片要求即可。许多直接压片稀释剂都是小粒子的聚集体，例如，α-乳糖一水物的水混悬物经喷雾干燥得到乳糖的聚集状产品，其流动性和可压性要比原 α-乳糖一水物好。第二个例子是 α-木纤维的酸水解产生聚集的微晶纤维素颗粒，通过氢键的结合产生黏性，使微晶纤维素片剂有极大的强度。

大多数直接压片稀释剂来自于同一制造商，但有些来自于不同制造商。如果有多个来源，它们可能有不同的注册名。例如，微晶纤维素有很多品牌名：Avicel®（FMC 公司），Emcocel®（Edward Mendell 公司），Vivacel®（J. Rettenmaier 公司）。这些品牌的微晶纤维素的化学性质即使不完全相同也基本类似，尤其当纯度和均匀性有药典标准时。然而，不能假定来自不同制造商的微晶纤维素具有相似的物理性质，而这些物理性质恰恰决定其在压片工艺中的性能。

每个品牌可能都附有一些促销宣传文献。通常这些文献将产品性能主观描述为“卓越的流动性”、“优越的可压性”，并只提供该产品的参考数据，因此，有时在两个不同来源的赋形剂之间作比较极其困难。

有些作者列出了“理想的”直接压片稀释剂的性质[2,4]。然而，必须牢记稀释剂总是某个多成分混合物中的一个组分。至少，稀释剂要与活性成分，多数情况下还有润滑剂一起混合。处方中活性成分的比例越大，稀释剂对片剂性质的影响越小。

困扰产品研发人员的困难之一是缺乏有实际意义的测试来评估赋形剂（包括直接压片稀释剂）。这就导致了所谓的“功能性测试”的开发。一些建议的功能性测试（如粒径、表面积）实际上只是在近似定义的条件下进行的物理测试方法[5]。测试结果与赋形剂的实际功能之间的关系尚需建立。确立了其间联系后，这些测试的一个更合适的名

称可能是“功能性相关测试”[6]。

不过，比较有用的是考虑直接压片稀释剂一些有价值的性质和如何测评这些性质。

1. 直接压片稀释剂所需的性质

1.1 流动性

良好的流动性是任何片剂处方的先决条件，它首先是片重均匀性的保证，其次是含量均匀性的保证。流动性可以通过休止角、穿过小孔、使用流通池等方法测量，但测量片重均匀性得到的数据更有意义。处方中加入助流剂可改善流动性。

1.2 易混合不易分层

活性成分与稀释剂混合成均匀的混合物，是片剂活性成分含量均匀性符合要求的基本保证。如前所述，在直接压片混合物中各组分没有如湿法制粒那样被黏结在一起，所以存在分层的可能。分层的主要原因是混合物中各组分的粒径不同，其次是由于形状、密度等不同[7]。因此理想状态是活性成分和稀释剂的粒径没有差异。活性成分的粒径被改变到与稀释剂相匹配是不可能的。相反，理想的直接压片稀释剂应该供应不同的粒径。

一个替代方法是用有序混合的概念，即把极细的活性成分颗粒分散到相对大得多的稀释剂颗粒的表面。这只有当药物的药理活性很强，稀释剂在处方中占绝对量时可行。

1.3 压片压力-片剂强度曲线

这是压片时施加的压力与所得到的片剂物理强度之间的关系。这看来是最重要的数据，但其偏差并不直观，而且对不同研究者的数据作比较很困难。

如果这些数据以图的形式表示，以压力或压强为横坐标，除非片剂横断面的尺寸已知，否则在压力与压强之间不能换算。此外，大量的不同的压力或压强单位的采用（表 1），使得数据比较更困难，甚至不可能。

片剂物理强度通常作为图的纵坐标，采用各种单位（见表 1）。同样，这里单位相互转换也极其困难。片剂的破碎强度主要与片剂的大小有关。因此，应该测定与片剂大小无关的强度，因此，片剂张力常按式（1）计算[10]：

$$T_s = 2P/\prod dt \qquad (1)$$

式中：T_s 是片剂张力（MPa）；P 为是压碎强度（单位 N）；d 是片剂直径（m）；t 是片剂厚度（m）。

利用这一等式时，预先假定片剂的横断面是圆形的，并且厚度均匀，即为圆柱形。Pitt 等试图把张力概念引申到非圆柱形片剂中[11]。

即使作出比较常常很困难，但如果使用 SI 体系的测量单位，难度将大大减小。因此，应该使用米、牛顿、帕斯卡分别作为长度、力、压强的单位。

表 1 表示片剂强度的压力或压强单位[9]

横坐标		纵坐标	
参数	单位	参数	单位
压力	kg	硬度	kg
	lb		强-Cobb 单位
	kN		N
	N		kp
压强	kg/cm^2	张力	kg/cm^2
	Pa		Pa
	MPa		MPa
	lb/in^2		

1.4 稀释容量或稀释能力

据定义，直接压片稀释剂是指与其他组分混合的物料。因此，不仅要测定稀释剂的压力-片剂强度曲线，而且要测定稀释剂与药物的混合物的曲线。直接压片稀释剂的容量是指其他组分与之混合的比例，在此比例下片剂的质量仍能符合要求。所谓的“符合要求”则取决于对片剂的要求。

对于给定的活性成分，对片剂性质的影响大小明显取决于物料的可压性。如果该药物适合于直接压片，这种影响不会大。相反，如果药物难以压制成片，与稀释剂混合时会明显影响片剂的质量。因此，如要可靠测定直接压片稀释剂的容量，应该用“标准”的物料与之混合，并在标准的条件下压片，这样可建立压力-强度曲线。扑热息痛[12,13]和维生素 C[9]已经用作这样的标准物料。

Minchom 和 Armstrong[12]设计了一个定量评估直接压片稀释剂容量的方法，他们采用了原先由 Malkowska 和 Khan[14]介绍的概念。用稀释剂采取一系列不同压力压片，测定片剂强度，得出压力-强度曲线。用同样方法对稀释剂和活性成分的混合物压片，测定片剂强度，得到的曲线如图 2 所示。

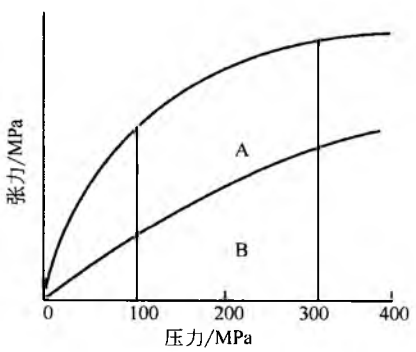


图 2 直接压片稀释剂容量的计算[9]

曲线经回归分析拟合为二次方程式，这些等式在限度（本例中压强为 100～300MPa）之间的积分给出了曲线下的面积。因此，由于加入了活性成分后导致的片剂强度的变

化可以从比率 B/(A+B) 得出。用乳糖和维生素 C 的混合物进行直接压片后的详细结果见表 2[9]。该方法由 Habib 等进一步发展[15]。

绘制压力-强度曲线时，可以通过计算片重均匀性的方法，同时测定活性成分对流动性的影响。

表 2 直接压片乳糖和维生素 C 的混合物的压力-强度曲线下面积比[9]

维生素 C 浓度/%	面积比
0	1.00
20.0	0.75
33.3	0.47
42.9	0.35
50.0	0.32
55.8	0.27
60.0	0.20

1.5 返工

一批失败的片剂有时可以通过打粉重压，这是人所共知的返工办法，也是干法制粒的方法之一。对于直接压片处方，这有时会引起问题。许多直接压片稀释剂颗粒以聚集的形式存在，如喷雾干燥乳糖，是由包埋在无定形乳糖中的微小乳糖晶体组成。压片时这些聚集体被压迫，其结构被破坏，导致再次压片时影响片剂的质量。

Malkowska 和 Khan[14] 的用于测定直接压片稀释剂容量的技术，最初是用于描述处方再次压片能力的。参见图 2，上面的曲线表示初次压片的片剂强度，下面的曲线表示再次压片的片剂强度。重压指数通过前面所述的计算曲线下面积的比值获得。

1.6 黏结机理

固体的基本性质是在外力的压迫下黏结成团块。主要有两种黏结机理——破碎机理和变形机理，尽管大多数固体是以一种机理为主的二种机理的混合体。这种机理对片剂的性质有重要影响。

压片速度对片剂质量的影响由黏结机理而定。破碎机理可以看作是虚拟的瞬间过程。因此，由破碎机理而黏结的固体对压片速度的影响即使有也很小。另一方面，变形机理是时间依赖性的。发生变形的时间是一定的，如冲模高速运转，就没有足够的时间施加压力。通过改变压片机速度或由相对低速的偏心压片改为高速的旋转压片，可以改变冲模速度。必须强调，关键的参数是冲模的速度而不是生产速度[16]。Roberts 和 Rowe[17] 引用了一个他们称为张力敏感度（the strain rate sensitivity）的参数。这样，可根据压成片剂的强度与冲模速度的关系对物料分类。Robert 和 Rowe 对此进行了详细研究，结果见表 3，其中许多是直接压片稀释剂。

表 3 粉末的张力敏感度[17]

物料	张力敏感度
磷酸钙	0
碳酸钙	0
重碳酸镁	0
对乙酰氨基酚 DC	1.8
对乙酰氨基酚	10.6
乳糖	16.2
压片乳糖（Tablettose）	19.2
无水乳糖	20.3
微晶纤维素 Avicel PH101	38.9
氯化钠	39.9
甘露醇	46.4
玉米淀粉	49.3

这项工作的实际意义见表 4[18]。随着冲模转速的提高，磷酸氢钙片的强度仅受微小影响。反之，淀粉片的强度被严重减弱。冲模转速的提高，速度敏感性材料压制成的片剂中的毛细孔增加，造成强度降低。因此在报道有关稀释剂的压片性质时，应说明压片机的类型和运转速度。

表 4 偏心压片机施加 80MPa 压力时的片剂强度（MPa）[18]

压片速度/(片/min)	磷酸氢钙	乳糖	微晶纤维素	淀粉 1500®
20/(片/min)	0.63	0.77	5.4	0.28
40/(片/min)	0.62	0.76	5.2	0.25
160/(片/min)	0.60	0.67	3.9	0.15
下降百分数/%	5.0	12	28	47

其次，黏结机理的重要性还反映在稀释剂受润滑剂影响的敏感性。一般来说，硬脂酸镁等润滑剂的加入会导致破碎强度的降低。当稀释剂与润滑剂混合后，每个稀释剂颗粒被极薄的润滑剂膜包裹，这层膜妨碍了稀释剂颗粒之间的黏结。然而，如果破碎是主要的黏结机理，会产生新的不受润滑剂污染的接触界面，颗粒之间的黏结力受影响小得多。因此，润滑剂在稀释剂表面的分布状态，对片剂强度有影响，其影响的程度取决于占主要地位的黏结机理。还有一些因素，如混合器的设计、混合时间和速度[19]以及润滑剂种类、浓度、加入方式等，在任何有关直接压片稀释剂的文献上都应说明。

用于直接压片的片剂稀释剂

有大量的各种各样的材料用作直接压片稀释剂，关于

此文献报道相当多。许多研究报告来源于某种稀释剂的营销组织，或来自于该组织赞助的工作。这些文献显然仅报道与该稀释剂相关的资料和结果。

然而，也有一些特别有价值的在大量稀释剂之间作比较的文献[20,21]。也许对直接压片稀释剂最全面的综述是由 Bolhuis 和 Chowhan[2] 发表的，《药用辅料手册》(*the Handbook of Pharmaceutical Excipients*) 上有许多直接压片稀释剂的专论，介绍了这些材料的详细物理性质[22]。

直接压片稀释剂经常是对现有的材料进行物理改性，使之具有必要的流动性和可压性。最方便的分类方法是根据材料来源，顾名思义，即：

- 纤维素及其衍生物；
- 无机材料；
- 多元醇；
- 淀粉及其衍生物；
- 混合或共处理产品。

表 5 列出了一些直接压片稀释剂的情况。

表 5 直接压片稀释剂的商品名和供应商

稀释剂	商品名	供应商
纤维素及其衍生物		
微晶纤维素	Avicel®	FMC
	Emcocel®	Penwest
	Vivacel®	Rettenmaier
纤维素粉末	Solka-Floc®	Degussa
	Elcema®	Penwest
硅化微晶纤维素	Prosolv®	Penwest
无机材料		
磷酸氢钙无水物	Dicafos-A®	Buddenheim
磷酸氢钙二水物	Calstar®	FMC
	Dicafos®	Budenheim
	Emcompress®	Penwest
	Di-Tab®	Stauffer
磷酸钙	Tricafos®	Budenheim
	Tricompress®	Penwest
	Tri-Tab®	Rhone-Poulenc
硫酸钙	Compactrol®	Penwest
多元醇		
木糖醇	Xylitab®	Xyrofin
乳糖醇	Finlac®	Xyrofin
甘露醇	Pearlitol®	Roquette
山梨醇	Neosorb®	Roquette
	Sorbitol Instant®	Merck

续表

稀释剂	商品名	供应商
淀粉及其衍生物		
预胶化淀粉	Starch 1500®	
	Starx 1500®	Colorcon
改性玉米淀粉	Primotab®	Avebe
玉米淀粉颗粒糖	Sepistab ST200®	Seppic
可压性蔗糖	Destab	Desmo
	Dipac	Amstar
	Nutab	Ingredient
	Sugartab	Technology
葡聚糖	Emdex®	Penwest
	Celutab®	Penwest
乳糖		Penick and Ford
聚集乳糖	Tablettose	Meggle
	Pharmatose DCL 15®	DMV
α-无水乳糖	Pharmatose DCL 30®	DMV
β-无水乳糖	Pharmatose DCL 21®	DMV
	Anhydrous DT	Sheffield
喷雾干燥乳糖	Fast-Flo®	Foremost
	Zeparox®	Borculo
	Pharmatose DCL 11®	DMV
混合或共处理物		
无水乳糖-无水乳糖醇	Pharmatose DCL 40®	DMV
硫酸钙-微晶纤维素	Cel-O-Cal	FMC
乳糖-纤维素	Cellactose®	Meggle
乳糖-淀粉	Starlac®	Roquette
乳糖-聚维酮	Ludipress®	BASF

1. 纤维素及其衍生物

自 1964 年用作直接压片稀释剂以来，微晶纤维素已成为最重要的药用赋形剂。它是微晶体组成的聚集体，从 α-木纤维素中酸水解分离得到。

当受压时，微晶纤维素颗粒塑性变形，其表面开始以氢键结合。由于微晶纤维素片强度极大，其很高的稀释剂容量足以抵消润滑剂造成的对强度的削弱[19]。事实上，微晶纤维素压片时摩擦系数很低，无需润滑剂。但微晶纤维素的流动性较差，需要加入助流剂。其堆密度也较低。与其他直接压片稀释剂不一样，其粒径范围很宽。

微晶纤维素可以从几个不同的来源得到。各种来源的微晶纤维素表现出不同的压片性质，所以，用一个品牌的微晶纤维素代替另一品牌时应谨慎[23]。微晶纤维素具有很强的吸湿性，由于吸湿后的水分使颗粒间的氢键减弱，所

以压片后片剂的性质很大程度取决于其水分含量。因此，比较不同品牌的微晶纤维素时，必须考虑到其水分含量[24]。

粉末状的纤维素已用于直接压片稀释剂。尽管其形成的片剂很硬，但流动性差、稀释能力小。像微晶纤维素一样，纤维素也有一些自我润滑性质，但通常必需加入润滑剂，造成片剂强度明显减弱[25]。

硅化微晶纤维素是微晶纤维素与2%微粉硅胶的共处理混合物。与微晶纤维素自身相比，其流动性和黏合性有了较大的提高[26]。

2. 无机材料

最广泛用作直接压片稀释剂的无机材料是磷酸钙。它有几种形式，但未打粉的磷酸氢钙二水物（$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$）是最常用的。它具有良好的流动性和黏合性，黏合性主要是由于磷酸氢钙粉碎成粉末盐黏结产生的。因此，尽管必须加入润滑剂，但片剂的强度减弱很少[19]。在相对湿度达80%的情况下磷酸氢钙二水物仍不吸湿，由于具有亲水性，它在水中可迅速被水渗透。尽管如此，由于其几乎是不溶于水中的，一般情况下不会崩解[27]。然而，磷酸氢钙二水物会溶解在酸性介质中，如胃酸。

磷酸氢钙二水物相当容易失去结合水，由此会影响含有该辅料的产品的稳定性[28]。

无水的磷酸氢钙和磷酸钙也可用于直接压片。后者实际上是磷酸的钙盐混合物，包括正磷酸钙［$Ca_3(PO_4)_2$］和羟磷灰石［$Ca_5(OH)(PO_4)_3$］。磷酸的钙盐的制备和性质由Carstensen和Ertell[29]进行了综述，其压片时的性质则由Bryan和McAllister[30]进行了研究。

硫酸钙也可用作直接压片稀释剂[31]。

3. 多元醇

有几种固体多羟基化合物通常在一些物理改性后可被用作直接压片稀释剂。大多数这样的多羟基化合物来自于天然物质，但常通过糖基分子经氢化而得到。一些聚合物的性质，以及乳糖和蔗糖的比较资料都列于表6中。

表6 一些多元醇的性质

	水中溶解度/(g/100mL)	溶点/℃	溶解热/(J/g)	水分			甜度（蔗糖=100）
				55%RH	75%RH	100%RH	
乳糖醇	170	180	−54	0.0	0.1	37.2	35
甘露醇	18	167	−121	0.5	0.5	83.7	50
山梨醇	200	110	−113	6.4	10.4	122.2	60
木糖醇	160	94	−153	0.1	0.1	70.6	100
乳糖	22	201	−18	0.8	0.8	7.0	15
蔗糖	200	160	−17	1.0	1.0	38.0	100

3.1 山梨醇

山梨醇可能是片剂制造中使用最普通的多元醇。它易溶于水，能产生很大的片剂强度。其在溶解时吸收热量，可在口腔中产生清凉的感觉，这使其在咀嚼片和无糖的糖果中特别有用。此外，大多数多元醇是不生龋齿的，这增加了其在此领域的使用。本品易吸湿，当暴露在相对湿度超过65%的环境下时，水分含量明显提高，从而降低了其流动性。在很高的湿度下，山梨醇吸收足够的水分而溶解。

山梨醇有四种晶型存在。Guyot-Hermann[32]等比较了11种商业化的山梨醇，发现了四种晶型中的三种。其中，γ-山梨醇是最有用的片剂稀释剂。制造方法影响到压片性质，其区别起因于不同的粒型和表面性质。作为直接压片稀释剂的各种喷雾干燥的山梨醇，据说克服了不同晶型带来的问题[33]。

3.2 甘露醇

甘露醇是山梨醇的异构体，与后者一样，可产生负的溶解热，在咀嚼片和糖锭中是特别有用的赋形剂。甘露醇比山梨醇吸湿性小，在水中的溶解度是山梨醇的1/10。甘露醇与山梨醇一样也有多晶型，导致形成片剂的能力不同[34]。然而，未经改性的甘露醇由于流动性和黏结性差不能用于直接压片。很宽范围粒径的甘露醇都可用于直接压片，据说可得到性能优良的片剂。

3.3 乳糖醇和木糖醇

此二者都是商品化的用于直接压片的材料，具有优良的流动性和黏结性。乳糖醇是微晶聚集的水制颗粒[35]。木糖醇也有类似的形式，对于木糖醇而言，也有与聚葡萄糖或者羧甲基纤维素预制粒的产品[36]。两种材料都是高度水溶性的，均可产生负的溶解热。

4. 淀粉及其衍生物

淀粉是使用极其广泛的片剂赋形剂，但其天然形态不具备片剂稀释剂所需要的流动性和黏结性。由于其为高弹性的成分，淀粉的主要黏结机理是变形[37]。另外，淀粉还

显示出高度的润滑剂敏感性[19]。

预胶化淀粉，经常提及的是 Starch 1500®，含有 80% 未改性淀粉、5%直链淀粉和 15%支链淀粉。尽管一直被描述为直接压片稀释剂[38]，但其压成的片剂显示出较低的物理强度，在片剂处方中主要用作崩解剂。预胶化淀粉保持了天然淀粉的崩解性能，而没有天然淀粉对流动性和片剂强度的负面影响。

5. 糖类

5.1 乳糖

乳糖是天然存在的含有一个半乳糖单元和一个葡萄糖单元的二糖。它是所有哺乳动物的乳汁成分之一，但商业化生产则来自牛乳，通常是乳酪工业的副产品。乳糖存在二种同质异构形式，α-乳糖和β乳糖，以结晶或无定形形式存在。结晶性的α-乳糖有一水物和无水物形式。β-乳糖仅有无水物形式。结晶温度是决定存在形式的主要因素[39]。

尽管结晶性α-乳糖一水物是最普通的片剂稀释剂，其通常用于制粒处方而不是直接压片处方。如果没有预处理，其流动性和黏结性都不能产生性质优良的片剂。通过流化床造粒，无定形乳糖被转变成α-乳糖一水物的聚集体，因而提高了其黏结性。该产品实际上不含无定形乳糖[40]。

喷雾干燥乳糖是第一个采用的直接压片稀释剂[41]，在片剂技术中产生了很大影响，至今仍广泛使用。将乳糖的水混悬体喷雾干燥，得到主要成分为结晶性α-乳糖一水物（80%）的与无定形乳糖（20%）的混合物。喷雾干燥乳糖由于其球形聚集体而显示出优异的流动性。然而，其压成的片剂强度有限，稀释剂能力较低。因此，一般其在片剂中的用量较大。破碎是其主要黏结机理，故片剂强度受润滑剂影响不大。来自不同制造商的喷雾干燥乳糖区别不大。对大量不同来源的喷雾干燥乳糖所作的比较结果由 Whiteman 和 Yarwood[21]发表。

无水乳糖主要是无水β乳糖，但可以有多达 25%的无水α-乳糖。无水乳糖由细微的晶体聚集组成，通过α-乳糖一水物旋转干燥制得。无水乳糖具有良好的流动性，在片剂硬度方面优于其他乳糖产品[21]。无水β乳糖远比其α-异构体更易溶于水，其压成片剂后崩解时间的延长归因于旋转干燥产品中无水α-乳糖的存在[42]。

无水α-乳糖可由α-乳糖一水物加热脱水或化学脱水而制得。在此过程中，无水α-乳糖颗粒从单晶体向聚集体转变。产品具有良好的流动性和黏合性，但压成片剂后溶出较慢是其应用的主要限制。

5.2 蔗糖

这是一种从蔬菜中得到的非还原二糖，是使用广泛的药用赋形剂。由于其吸湿性比乳糖大得多，在固体制剂中较少使用。纯蔗糖的可压性较差，但其形态改性后可用于直接压片。改性后的蔗糖统称为“可压性糖”，根据其来源主要包括淀粉、麦芽糊精或转化食糖，及润滑剂。有人比较了几种不同类型的可压性糖[43]。因差别较大，在片剂处方中用量少但明显起了主要的作用。由于蔗糖的溶解性极大，可压性糖经常用于糖锭和咀嚼片中，片剂趋向于溶解而不是崩解。

5.3 葡萄糖和葡聚糖类

葡萄糖本身不能直接压片，然而，一个主要成分是葡萄糖喷雾结晶的产品可用于直接压片。这就是葡聚糖，是由淀粉经部分水解而得。它由 90%的葡萄糖、约 5%的麦芽糖和多聚糖组成[44]。尽管葡聚糖的含水物和无水物都有介绍，但仅前者市场上可得到。葡萄糖可任意溶解，具有很高的吸湿性，因此在高湿度环境下不便使用。由于其味甜和溶解时吸热，常推荐用于咀嚼片。

6. 混合物和共处理产品

尽管已有大量的直接压片稀释剂，但没有一个是理想的。例如，喷雾干燥乳糖流动性好但片剂强度差，反之，微晶纤维素流动性差但片剂强度极高。因此，考虑结合各组分的优点而克服其不足是可以理解的。

混合物的可压性质已由 Fell[45]综述过了，他认为混合物压成的片剂性质，很少可以通过混合物中各组分单独的性质来预测。不过，仍取得了一些成果[46]。

近几年，上市了大量的共处理赋形剂组合物，无庸置疑，这些混合物比各组分的物理混合更优越。如乳糖和聚维酮的混合物[17]，纤维素和乳糖的混合物[48]，无水乳糖和无水乳糖醇的混合物。这种方式的缺点是相关的组分比例是固定的，而这样的混合物不一定是最佳组合。

参考文献

1. Little, A.; Mitchell, K. A. Tablet Making; 2nd Ed.; Northern Publishing: Liverpool, U. K., 1963.
2. Bolhuis, G. K.; Chowhan, Z. T. Materials for direct compression. In Pharmaceutical Powder Compaction Technology; Alderborn, G., Nystrom, C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 419－500.
3. Kristensen, H. G.; Schaefer, H. G.; Granulation, T.; Drug Dev. Ind. Pharm. 1987. 13 (4/5), 803－872.
4. Sheth, B. B.; Bandelin, F. J.; Shangraw, R. F. Compressed Tablets. In Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; 1st Ed.; Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1980; Vol. 1, 109－185.
5. Brittain, H. G. Functionality testing of excipient materials. Pharm. Technol. 1993, 9 (9), 72－73.
6. Armstrong, N. A. Functionality related tests for excipients. Int. J. Pharm. 1997, 155, 1－5.
7. Campbell, H.; Bauer, W. C. Cause and cure of demixing in solid-solid mixers. Chem. Eng. 1966, September,

179－185.

8. Staniforth, J. N.; Rees, J. E.; Kayes, J. B. Relation between mixing time and segregation of ordered mixes. J. Pharm. Pharmacol. 1981, 33, 175－176.
9. Armstrong, N. A. Selection of excipients for direct compression tablet formulations. Pharm. Technol. Eur. 1997, September, 24－30.
10. Fell, J. T.; Newton, J. M. Determination of tablet strength by the diametral compression test. J. Pharm. Sci. 1970, 59 (5), 688－691.
11. Pitt, K. G.; Newton, J. M.; Richardson, R.; Stanley, P. Material tensile strength of convex-faced aspirin tablets. J. Pharm. Pharmacol. 1989, 41, 289－292.
12. Minchom, C. M.; Armstrong, N. A. A proposed technique for expressing the capacity of directly compressible tablet diluents. J. Pharm. Pharmacol. 1989, 39, 69.
13. Wells, J. I.; Langridge, J. R. Dicalcium phosphate dihydrate-microcrystalline cellulose systems in direct compression tabletting. Int. J. Pharm. Tech. and Prod. Manuf. 1981, 2 (2), 1－8.
14. Malkowska, S.; Khan, K. A. The effect of recompression on the properties of tablets prepared by dry granulation. Drug Dev. Ind. Pharm. 1983, 9 (3), 331－347.
15. Habib, Y.; Augsburger, L.; Reier, G.; Wheatley, T.; Shangraw, R. Dilution potential: A new perspective. Pharm. Dev. Technol. 1996, 1 (2), 205－212.
16. Armstrong, N. A. Time-dependent factors involved in powder compression and tablet manufacture. Int. J. Pharm. 1989, 49, 1－13.
17. Roberts, R. J.; Rowe, R. C. The effect of punch velocity on the compaction of a variety of materials. J. Pharm. Pharmacol. 1985, 37, 526－528.
18. Armstrong, N. A.; Palfrey, L. P. The effect of machine speed on the consolidation of four directly compressible tablet diluents. J. Pharm. Pharmacol. 1989, 41, 149－151.
19. Bolhuis, G. K.; Holzer, A. W. Lubricant Sensitivity. In Pharmaceutical Powder Compaction Technology; Alderborn, G., Nystrom, C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 517－560.
20. Bolhuis, G. K.; Reichman, G.; Lerk, C. F.; van Kamp, H. V.; Zuurman, K. Evaluation of anhydrous α-lactose, a new excipient in direct compression. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11 (8), 1657－1681.
21. Whiteman, M.; Yarwood, R. J. The evaluation of six lactose-based materials as direct compression tablet excipients. Drug Dev. Ind. Pharm. 1988, 14 (8), 1023－1040.
22. Kibbe, A., Ed. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Ed.; Pharmaceutical Press: London, 2000.
23. Doelker, E.; Mordier, D.; Iten, H.; Humbert-Droz, P. Comparative tabletting properties of sixteen microcrystalline celluloses. Drug Dev. Ind. Pharm. 1987, 13 (9－11), 1847－1875.
24. Roberts, R. J.; Rowe, R. C. Source and batchwise variability in the compressibility of microcrystalline cellulose. J. Pharm. Pharmacol. 1987, 39, 70P.
25. Bos, C. E.; Vromans, H.; Lerk, C. F. Lubricant sensitivity in relation to bulk density for granulations based on starch and cellulose. Int. J. Pharm. 1991, 67, 39－49.
26. Sherwood, B. E.; Hunter, E. A.; Staniforth, J. N. Silicified microcrystalline cellulose (SMCC™). A new class of high functionality binders for direct compression diluents. Pharm. Res. 1996, 13 (9), S197.
27. Caramella, C.; Colombo, P.; Conte, U.; Ferrari, F.; La Manna, A.; van Kamp, H. V.; Bolhuis, G. K. Water uptake and disintegrating force measurements: Towards a general understanding of disintegration mechanisms. Drug Dev. Ind. Pharm. 1986, 12 (11 － 13), 1749－1766.
28. De Haan, P.; Kroon, C.; Sam, A. P. Decomposition and stabilisation of the tablet excipient calcium hydrogen phosphate dihydrate. Drug Dev. Ind. Pharm. 1990, 16 (13), 2031－2055.
29. Carstensen, J. T.; Ertell, C. Physical and chemical properties of calcium phosphate for solid state pharmaceutical formulations. Drug Dev. Ind. Pharm. 1990, 16 (6), 1121－1133.
30. Bryan, J. W.; McCallister, J. D. Matrix forming capabilities of three calcium diluents. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18 (19), 2029－2047.
31. Elsabbagh, H. M.; Elshaboury, M. H.; Abdel-Aleem, H. M. Physical properties and stability of diazepam and phenobarbitone sodium tablets prepared with compactrol. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11 (11), 1947－1955.
32. Guyot-Hermann, A. M.; Leblanc, D.; Draguet-Brugmans, M. Gamma sorbitol as a diluent in tablets. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11 (2/3), 551－564.
33. Basedow, A. M.; Moschl, G. A.; Schmidt, P. C. Sorbitol instant, an excipient with unique tabletting properties. Drug Dev. Ind. Pharm. 1986, 12 (11 － 13), 2061－2089.
34. Debord, B.; Lefebre, C.; Guyot-Hermann, A. M.; Hubert, J.; Bouche, R.; Guyot, J. C. Study of different crystalline forms of mannitol: Comparative behaviour under compression. Drug Dev. Ind. Pharm. 1987, 13 (9－11), 1533－1546.
35. Armstrong, N. A. Direct compression characteristics of

lactitol. Pharm. Tech. Eur. 1998, 10 (2), 42—46.

36. Morris, L. E.; Moore, J. C.; Schwartz, J. B. Characterisation and performance of a new direct compression excipient for chewable tablets: Xylitab. Drug Dev. Ind. Pharm. 1996, 22 (9/10), 925—932.

37. Paronen, P.; Juslin, M. Compression characteristics of four starches. J. Pharm. Pharmacol. 1983, 35, 627—635.

38. Manudhane, K. S.; Contractor, A. M.; Kim, H. Y.; Shangraw, R. F. Tableting properties of a directly compressible starch. J. Pharm. Sci. 1969, 58 (5), 616—620.

39. Lerk, C. F.; Andreae, A. C.; de Boer, A. H.; de Hoog, P.; Kussendrager, K. D.; van Leverink, J. Transition of lactoses by mechanical and thermal treatment. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 857—859.

40. Shangraw, R. F.; Wallace, J. W.; Bowers, F. M. Morphology and functionality of tablet excipients for direct compression. Pharm. Tech. 1981, 5, 69—78.

41. Gunsel, W. C.; Lachman, L. Comparative evaluation of tablet formulations prepared from conventionally processed and spray-dried lactose. J. Pharm. Sci. 1963, 52 (2), 178—182.

42. Van Kamp, H. V.; Bolhuis, G. K.; Kussendrager, K. D.; Lerk, C. F. Studies on Tabletting Properties of Lactose. IV. Dissolution and disintegration properties of different types of crystalline lacose. Int. J. Pharm. 1986, 28, 229—238.

43. Ondari, C. O.; Kean, C. E.; Rhodes, C. T. Comparative evaulation of several direct compression sugars. Drug Dev. Ind. Pharm. 1983, 9 (8), 1555—1572.

44. Henderson, N. L.; Bruno, A. J. Lactose USP (Beadlets) and Dextrose (PAF 2011), Two new agents for direct compression. J. Pharm. Sci. 1970, 9, 1336—1340.

45. Fell, J. T. Compaction properties of binary mixtures. In Pharmaceutical Powder Compaction Technology; Alderborn, G., Nystrom, C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 501—515.

46. Armstrong, N. A.; Lowndes, D. H. L. The use of mixtures of spray-dried lactose and microcrystalline cellulose as direct compression diluents. Int. J. Pharm. Tech. and Prod. Manuf. 1984, 5 (3), 11—14.

47. Schmidt, P. C.; Rubensdorfer, C. J. Evaluation of ludipress as a multipurpose excipient. Drug Dev. Ind. Pharm. 1994, 20 (18), 2927—2952.

48. Armstrong, N. A.; Roscheisen, G.; Al-Aghbar, M. R. Cellactose as a tablet diluent. Manuf. Chem. 1998, 67, 25—26.

（龚 忠 译）

Z

制剂工艺验证

Robert A. Nash

Consultant, Mahwah, New Jersey, U. S. A.

引言

工艺验证是现行 GMP 对药品（21 CRF 211）和医疗器械（21 CFR820）的要求，适用于药品和医疗器械生产。

根据 FDA 工艺验证总则[1]，工艺验证的定义是“……建立文件证据，提供更高程度的保证，特定的工艺会始终如一生产出符合预期规格和质量的产品。”药品生产工艺由一系列单元操作（模块）按逻辑步骤组成的流程，从而生产出了药品。

实际应用当中，人们对于工艺验证的定义和验证文件的组成有许多误解。这里所说的验证涵盖了现行 GMP 所涉及的全部内容，最基本的包括：设施、设备、组件、方法和工艺确认。根据 FDA 对工艺验证的指导原则[1]，这个特定术语应指产品和工艺开发的最后阶段。成功完成开发计划的基本或主要步骤或阶段见表 1。

表 1 关于工艺验证的开发进程

开发阶段	批量
产品设计	1×
产品表征	
产品选择	
工艺设计	
产品优化	10×
工艺表征	
工艺优化	
工艺确放	
工艺确放	100×
工艺验证	
工艺证明	
工艺再验证	100×～1000×

工艺开发的最后阶段应指定正式的（三批）工艺验证，实际上工艺验证的特定操作永远不会失败，正式工艺验证中的失败往往是由于工艺不完善或不完全了解生产能力造成的，换句话说就是不了解在给定的操作要求下，工艺能做到什么，不能做到什么。

一个好的验证计划，重点应该放在设施、设备、组件、方法和工艺确认上。在这个方案中，正式的最后三批的验证只能提供 FDA 要求的工艺验证文件，表明产品的生产重现性和受控的生产过程。这种策略与 FDA 的预检指导原则是一致的[2]。

工艺验证分类

根据工艺验证总则[1]，工艺验证分为三类：预验证（也叫上市销售之前的验证），回顾性验证和再验证。如果将同步工艺验证也算在内的话，实际上是四种。

对于新品种或生产工艺改变生产出的产品，因为这种改变可能会影响药品的质量规范或质量特性，所以在上市前要进行预验证。预验证主要反映关键步骤，通过运用最坏情况分析或析因设计等方法在工艺确认阶段分析生产过程中的单元操作，可以确定这些关键步骤的工艺参数是否会影响整个生产过程。在正式的三批预验证中，应该将关键步骤的工艺参数设定在操作范围内，而且在工艺操作中不能超出或低于它们的控制限。生产出的产品也应符合成品质量标准。

回顾性验证是现行 GMP（21 CRF 211.110（b））和 FDA 工艺验证指南[1]都认可的验证方式。这种验证方式涉及通过积累的中间体和最终成品的检验和控制（用数据表示）数据，用以证实产品及其生产过程是受控的。有效的中间体控制结果应该与药品的最终质量标准相统一，并且应该源于先前可接受的工艺均值和可能的生产变量评估，通过恰当地应用合适的统计学方法（质量控制图）加以确定。

回顾性验证适用于生产工艺稳定，但出于经济考虑或资源限制，无法进行预期确认和验证试验的产品。在预验证和回顾性验证提供保障之前，设施、设备和与生产工艺有关的系统都必须确认符合 cGMP 的要求。

同步验证是在正常生产过程中按照方案进行的验证。最初的三批生产必须尽可能受监控。结果的评估应该作为建立后续中间体控制和成品检测的可接受标准和规范。运用统计学过程控制技术（质量控制图）的同步验证，可以贯穿于产品的整个生产周期。

再验证用于确认工艺和生产环境同时变化或其中一项发生变化，不管这种变化是有意还是无意被引入的，都不会反过来影响产品规范和质量特性[2]。当处方、设备、工艺和包装发生明显变化以致可能会影响产品和生产工艺性能时，质量保证方案（变更控制）应该要求再验证[3]。此外，当原料供应商发生变化时，药品生产商应该敏感地意识到，原料质量特性的潜在不利变化可能会反过来影响产品和生产工艺性能。

建议所涉及的每一个变化都应该通过验证或者 CMC 委

员会审核。由该委员会判断是否需要对这种变化进行再验证，同时决定后续的行动过程。以下几种情形要求进行再验证研究和文件：

（1）关键组分发生变化（通常指活性药物成分、关键赋形剂，或主要的包装）；

（2）变化或更换了（主要）设备的关键模块；

（3）生产条件发生重要变化，可能会影响后续单元操作和产品质量；

（4）设施和（或）工厂发生变化（通常指场所、位置或支持系统）；

（5）批量显著增加或减小，影响了设备的操作；

（6）连续批次不符合产品和中间体标准。

在某些情况下，在进行特定的再验证之前要进行工艺性能再确认研究。当前，除了无菌产品生产以外，其他产品都不要求进行周期性再验证。产品和生产过程的性能和控制情况可以充分体现在年度产品和工艺回顾中。FDA 已经发表临时性指导文件，说明了速释固体制剂处方和生产的主、次要变化内容[4]。该文件及其后续文件会简化生产上关于是否需要再验证的判断。

验证的顺序

关于制剂生产中的哪一个工艺应给予较高的验证优先权有一个基本概念。所有制剂生产过程都要求工艺验证文件，但是有一个公认的优先权选择逻辑法则：

（1）无菌制剂及其工艺：

- 超过 100ml 的大容量注射剂（LVP）；
- 单剂量或多剂量的小容量注射剂（SVP）；
- 滴眼剂和灭菌装置。

（2）非无菌制剂及其工艺：

- 低剂量高药效片剂和胶囊剂；
- 有固定稳定性问题的药物；
- 透皮给药制剂和吸入剂；
- 余下的口服固体制剂；
- 口服液和局部给药制剂。

评价最终灭菌方法（如湿热灭菌、干热灭菌、辐射灭菌和化学方法灭菌）的最好途径是在实施给定的灭菌程序之前先对制剂生产进行确认、验证并确定其稳定性。

验证委员会

在大多数公司，验证化学、生产和控制的委员会（CMC）负责具体生产场所全套验证项目的起草和执行。在某些公司，验证工作由验证经理领导，而在另外一些公司则是由质量保证人员承担。

具体工艺验证指定是由那些具备必要培训和经验的人员进行的。关于验证委员会如何组织进行工艺验证批定不在本文讨论范围之内。表 2 列出了必须履行的职责以及实现这些指定的最好的传统组织架构。其他成员还可能包括 QC、法规事务等。

表 2 生产验证委员会组成

部门	职能
工程部	确保厂房、设施、设备和支持系统的确认
研发部	产品及其具体生产工艺的确认
生产部	厂房、设施、设备、支持系统和各种生产过程的运行
质量保证部	监督厂房、设施、设备、支持系统、各种生产工艺及其产品

验证主计划

验证主计划的起草允许对验证工作形成逻辑观点。它将活动和（或）主要工作按逻辑顺序排列，以便与由 Gantt（甘特）图表或 PERT（性能评审技术）图表得到的近似时间表相一致。验证主计划必须根据图表指出关键步骤，以确保这些生产过程被监控。

验证项目从原料和组分的设计和开发开始，接着通过性能和工艺确认阶段对设施、设备和系统的 IQ/OQ 进行确认，最后是履行方案要求的三批正式工艺验证。大部分活动是连续向前推进的。然而，通过将活动和主要工作平行推进，先独立进行有关活性药物成分（APIs）分析方法的研究，设施、设备、支持系统和药物产品的设计和生产工艺开发，再将单个工作或多个活动组合起来进行正式工艺验证，可以节省大量时间。图 1 是一组工艺验证的进度表。

1. 安装确认（IQ）

安装确认包括程序和文件均显示已安装的设施、支持系统或设备模块的所有重要方面均经正确校正，达到其设计标准，供应商的建议也已认真考虑。

2. 运行确认（OQ）

IQ 之后，程序和文件均显示已安装的设施、支持系统或设备模块在所有预期的操作范围和合适的负荷下能完成运行。

3. 性能确认（PQ）

IQ、OQ 之后，验证表明设施、支持系统或设备模块可以按照预先设计的方案运行，并实现工艺重现性和符合产品质量标准。

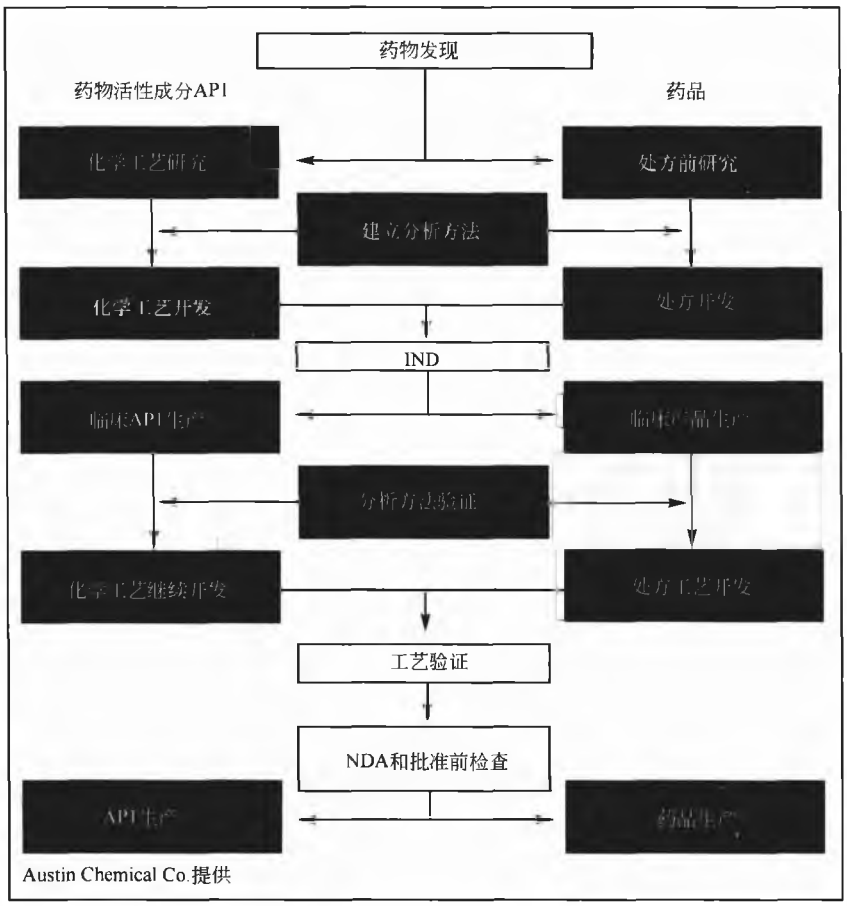


图 1 生产验证进度表

验证方案和报告

以下是 WHO 的生产工艺验证指南（TRS 823）[5] 推荐的验证方案和完整的验证报告格式。

（1）目的（整个验证）和必要条件。

（2）整个工艺以及次级工艺，包括流程图和关键步骤分析。

（3）验证方案批准。

（4）安装和运行资格确认，包括蓝图或图纸。

（5）确认报告：

- 次级工艺；
- 目的；
- 方法和程序；
- 取样和检验程序，放行标准；
- 报告的功能；
- 校正和测试设备；
- 测试数据；
- 结果总结；
- 批准和再确认程序；
- 次级工艺 2（重复）。

（6）产品确认，预验证批次的检验数据。

（7）产品验证，三批正式验证批次的检验数据。

（8）评价和建议（包括再验证和再确认的要求）。

（9）证明（批准）。

（10）总结报告。

验证方案和报告也可以像清洁验证和分析方法验证文件一样包括产品稳定性报告的副本或总结。

批准前检查

采用 FDA 批准前检查程序[2] 可以确定新药申报（NDA）和简略新药申报（ANDA）中申报资料和实际资料的合适性和准确性，特别是关于 cGMP 产品开发、分析实验室和生产设施的适应性。

批准前检查清单应包括以下在正式检查之前可能被要求的文件：

（1）API 开发和验证报告，包括杂质图谱和多晶型。

（2）制剂（剂型）开发报告。

（3）稳定性和临床批记录和历史，包括三期临床。

（4）临床和生物试验批生产所用的 API 和关键赋形剂数据。

(5) 生物等效性报告。

(6) 技术转移报告（开发到生产/QA/QC）。

(7) NDA 的 CMC 部分的副本，包括厂商和供应商的信息。

(8) 被要求的产品记录和主批记录副本。

(9) 设备验证报告，IQ 和 OQ。

(10) 清洁验证报告。

(11) 分析方法验证和计算机系统验证报告。

(12) 稳定性报告，及药品有效期报告。

(13) 生产规模的正式三批验证的生产工艺验证方案。

在批准前检查中，FDA 接受公司送交的完全成功的、产品上市前三批规模化生产的产品验证方案。在某些情况下，预验证（工艺确认）要在整个三批程序正式进行前完成。

中试放大和技术转移

中试生产可以由开发实验室及相应的制造方共同参与完成，也可由单独的、指定的中试厂或工艺开发部进行工艺证实。支持的技术转移文件适用于已确认和验证过的具体工艺和系统，以及相关的检验标准和方法。正式的技术转移通常由开发实验室或工艺开发中试厂方转移到药品制造方。

实际生产中涉及大量的技术转移要点和文件，可作为预验证过程贯穿于产品开发的不同阶段。图 2 说明了技术转移的不同放大步骤。

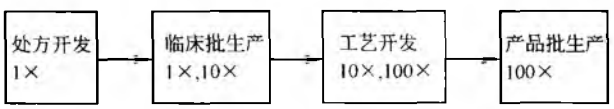


图 2 技术转移步骤

采用固体制剂（片剂和胶囊剂）说明产品和工艺开发的不同阶段。这些原则和操作通常也适用于液体和半固体制剂（此处不做讨论）。

验证步骤

要将验证概念整合到产品和工艺开发的不同阶段中，具体总结如下。

1. 处方前研究阶段：药物活性成分（API）和关键辅料

第一阶段 产品设计和开发
第二阶段 临床和生物试验批的制备
第三阶段 生产放大和评估
第四阶段 正式生产验证

2. 处方前研究：API

特定 API 和处方前测试，以及在产品设计阶段要使用的关键辅料的测试（辅料可以单独或和 API 一起测试），应包括在产品和工艺开发的第一步。下面列出了处方前研究中值得考虑的 API 和重要或关键辅料的简单测试条目。

API

- 关键赋形剂；
 - 填充剂和稀释剂
 - 黏合剂
 - 崩解剂
 - 助流剂和润滑剂
- 确定化学和物理相容性；
- 尽可能减小批间差异；
- 类似供应商的全球可获得性；
- 性质评价。
 - 颜色，气味，味道，溶解性
 - 粒子形态（DSC，TGA，X 射线衍射）
 - 粒度分布和表面积
 - 晶体和堆密度，压缩指数
 - 休止角和流动指数
 - 分光光度（UV，FTIP，NMR，OR）
 - 水分，LOD，吸湿性
 - 微生物限度和重金属
 - HPLC 分析和杂质图谱

在处方前研究之前，必须建立 API 制造方（实验室和工厂）与药品研发实验室之间的技术交流（图 1）。这种交流必须尽早建立并贯穿产品和工艺研究的全过程。

除考察 API 的效价、纯度和稳定性外，药品研发部门还应特别关注 API 的化学和物理形态（游离酸或碱，盐类，酯，酰胺，多晶型物，溶剂化物，粒径和形状）。在研发周期内尽早确定这些粒子的特性有助于简化接下来的药品和工艺研发过程。

并非要对上面提到的每一个项目都进行测试或加以说明。但是，对于表观、粒子形态和大小、可压性和流动性、水分、分光光度法和色谱分析等数据应该在药品和工艺研发的主过程中始终加以研究监控[6,7]。

在多数新药和新工艺开发项目中关键辅料都研究得很清楚，相同程度的处方前审查常常对此不做要求。然而对其与 API 的相容性考察则必须进行，以研究其与活性成分和其他辅料间不利的相互作用。切记，在与关键辅料紧密接触的二元研究中，绝不能因其物理和化学性质的细小变化而排除一种可能的赋形剂，而必须进行更进一步的关键测试。

3. 第一阶段：产品设计和开发

在成功完成处方前研究后，将 API 转移到制剂实验室进行初步的产品设计和开发研究。大多数情况下，药物与适当的填充剂或稀释剂和助流剂混合后会被填充到避光的硬胶囊中进行初步的稳定性研究，随后与相应的安慰剂胶囊一起进行一期临床考察[8]。同时或大约同时，实验片剂

处方的初步研究也开始了。下面列出了产品设计和开发中的关健步骤。

第一阶段：产品设计：1×实验室批量（1～10kg）

- 硬胶囊（一期临床试验）及初步的片剂：
 - 制湿颗粒与直接压片
 - 最大化化学和物理稳定性
 - 产品表征
 - 产品选择
 - 工艺设计
- 从以下种类的辅料中筛选：
 - 黏合剂、稀释剂、崩解剂，包括海藻酸盐、磷酸钙、纤维素、凝胶、糊精、聚维酮、淀粉及其衍生物、山梨醇、蔗糖及其衍生物
 - 助流剂和润滑剂，包括二氧化硅胶质、氢化植物油、矿物油、PEG、硅胶、十二烷基硫酸盐、硬酯酸盐、滑石粉

尽管研究工作是在开发或处方实验室用小型工艺设备进行的，但是对于最终的片剂产品获得着色剂经验是十分重要的。颜色有助于评估混合的均匀度。

除了对辅料进行筛选外，在产品放大阶段更加充分地研究工艺参数也极为重要。工艺因素包括粉末和颗粒的流动性、可压性，粉末、颗粒和片剂含量的均匀度，吸湿性、体外溶出曲线，以及随后的完整的稳定性测试。

人体临床试验用药必须符合 GLP、GCP 和 GMP 的要求[1,9]。

4. 第二阶段：工艺开发：中试实验室（临床）

实验室批量（1×）通过高温加速试验（45℃一个月或40℃三个月，相对湿度 80%）确定物理和化学稳定性之后，开始第二阶段（二期），放大产品批量至中试实验室规模（10×）。该批代表指定处方的第一次放样。它的批量通常在 10～100kg、10～100L 或 10 000～100 000 单位。通常，这些中试实验室批用于临床试验和生物等效性研究。根据 FDA 规定，最小的生物实验批为 100 000 单位[10]。

中试实验室批次通常用规定的现行 GMP 认可的小型设备进行制备。中试实验室批次的批量通常由下列因素中的某种或某几种因素决定：

- 设备可获得性；
- API 可获得性；
- 原料成本；
- 临床和非临床研究的详细要求。

工艺开发（工艺确认）或工艺能力研究通常开始于这个重要的第二阶段。第二阶段工艺开发的内容主要包括产品优化和工艺特性研究。

（1）产品优化：建立处方合理性和 API 及赋形剂的限制条件。

（2）工艺特性：

- 定义单元操作、工艺参数和响应参数：
 - 用简单的实验设计来确定关键工艺参数和响应参数
 - 建立基于工艺重复的关键工艺参数和响应参数的临时控制范围
- 维持产品稳定。

固体制剂开发的单元操作包括：

- 制粒；
- 干燥；
- 整粒；
- 混合；
- 灌装或压片；
- 包衣；
- 内、外包装。

单元操作根据片剂（包衣或不包衣）或胶囊剂（硬胶囊或软胶囊）剂型的不同而有不同选择[11]。关键单元操作的确定取决于分析工艺变量和每个单元操作所导致的结果（表 3）[12～14]。

表 3 固体制剂工艺控制参数

单元操作	工艺变量（X）[1]	考察指标（Y）[2]
制粒（粉末型）	负载 速度（主粉碎机） 液体加入速度 制粒时间	能量消耗
干燥	负载 进风温度 气流速度 干燥时间	水分 堆密度
整粒（过筛）	负载 筛网规格 速度 加料速度	粒径分布 堆密度
混合（总混）	负载 速度 混合时间	混合均匀性
灌装	装量 灌装紧密度设置 速度 崩解剂（种类，数量）	胶囊质量 水分 溶出度 含量均匀度 效价
压片	压片速度 加料速度 预压力 压片压力	片重 水分 硬度/脆碎度 片厚 溶出度/崩解 含量均匀度 效价
包衣（薄膜衣类）	负载 包衣锅转速 喷雾速度 空气流速	增重

1）7～23 可能变量；

2）11～16 可能指标。

为确定该阶段工艺的关键控制参数及其单元操作，往往使用限制分析技术[15]及析因设计（表4）来挑战试验性控制极限（被称为最坏情况分析）。在10×阶段花费时间努力确认生产工艺可简化接下来的第三阶段和第四阶段的工作。

表4 工艺开发中的析因设计[1)]

试验	关键变量[2)]							合计
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	
1	—	—	—	—	—	—	—	0/7
2	—	—	—	+	—	—	—	1/6
3	—	—	+	—	—	+	—	2/5
4	+	+	—	—	+	—	—	3/4
5	+	+	—	—	—	+	+	4/3
6	+	—	+	+	+	—	+	5/2
7	—	+	+	+	+	+	+	6/1
8	+	+	+	+	+	+	+	7/0
合计	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	28/28

1）引自 Hendrix C. D.，每个技术人员都应了解的实验设计，CHEMTECH（1979年3月）；

2）关键变量是“X”的任意赋值。

Von Doehren 等[13]和 Chowhan[16]已经描述了固体制剂工艺开发的各个阶段及相关的工艺转移和工艺验证。本文完整涵盖了他们各自关于这一主题的方法。

Fahrner[17]对中试工厂在产品开发中的新作用做了如下总结。

- 太多时间花费在了预期或应用研究上，而恰当的工艺开发却不够。
- 项目早期往往缺乏一种适宜的生产策略，这导致了无计划的技术转移以及不恰当的项目整体的责任分配。
- 中试常常是生产规模的缩小而不是实验室批量的放大，大部分的实验室工艺是难以放大的。

Fahrner 列举了独立的中试方（工艺开发功能），以加强研发方和制造方之间的联系。

5. 第三阶段：中试生产

从传统的产品开发功能到独立的工艺开发功能（中试工厂）的技术转移，或产品本身处于100倍的中试批量（100～1000kg）：

- 满批量批生产；
- 将来可能的商业和临床使用；
- 评价关键工艺参数；产品和工艺放大到另一数量级（100×）；
- 优化工艺：
 - 混合时间
 - 干燥时间
 - 粉碎操作
 - 压片速度、压力
 - 灌装速度，灌装紧密度
 - 速度、空气流量、喷雾设置、温度
- 工艺确认（预验证批次）；决定工艺能力，挑战过程中控制限度；
- 维持产品稳定性。

单独的中试工厂或工艺开发部门近年来备受青睐，因为它能及时对关键工艺进行确认和（或）验证研究[18,19]。

中试生产的目标是放大产品及其工艺到另一数量级（100×）。大多数固体制剂是在标准设备上进行满批量生产的。技术转移文件应包括批准前检查要求的常规资料：

（1）处方前资料。

（2）产品开发报告。

（3）产品稳定性报告。

（4）分析方法报告。

（5）用到的生产计算公式，生产指令，100×批量生产时的中间体和成品标准。

第三阶段（100×中试批量）预验证试验的目标是确认和优化满批量生产时设施和设备的生产工艺。

想要快速完成第一批（100×）中试生产以便进行正式的验证反而常常导致令人失望的结果。在中（100×）试生产中出现的一些小问题应该立即着手解决，不能忽视。这些问题最好返回到实验室（10×）阶段进行追加工艺特性研究和确认研究。

然而，有许多公司不进行第三阶段预验证就直接进行正式三批验证，还经常在批准前检查之前就完成了正式试验。这种做法往往会导致成品放置在仓库中直至过期。

选择策略时，除了依靠有关产品和工艺先前的经验之外，没有其他理想办法可以完成中试放大和验证。

6. 第四阶段：正式工艺验证

正常情况下，成功完成批准前检查后，要按照批准前检查核准的验证方案进行正式三批工艺验证。正式工艺验证的主要目的是确认工艺的重现性和一致性。这次验证不需要挑战关键工艺变量的上、下限（最坏情况分析）。挑战工艺控制的上、下限通常放在第二阶段（10×）进行工艺

特性研究、工艺优化和工艺确认项目时，运用恰当、合理的实验设计来完成（表 4）。

正式工艺验证前期、中期和后期所要建立的文件显示如下。设计的方案及其验证研究用于确定三批生产中制粒、混合、最终压片和最终胶囊灌装等过程的一致性[1,2,10]。

100×产品批量

- 完成产品开发程序和报告；
- 准备预期的工艺验证方案；
- 完成批准前检查要求；进行三批正式工艺验证，确认混合、总混和压片或灌装操作的重现性；
- 编写验证文件：
 - 处方前报告
 - 分析方法验证报告
 - IQ/OQ 和清洁验证报告
 - 处方开发报告
 - 工艺可行性报告
 - 生产生物等效性报告
 - 产品开发报告
 - 工艺验证方案
 - 工艺验证报告
 - 产品稳定性报告

验证中采用以下测试数据和结果显示工艺重现性和一致性：粒度分布，堆密度，水分，硬度，片厚，脆碎度，质量差异，含量均匀度，崩解/溶出度和产品稳定性。在中控和成品检测中不是每一类检测都会用到，但是必须有足够多的测试来确认工艺的重现性，而且必须确保产品和工艺在控制之中。

只要有可能，正式验证研究应该持续到包装和贴标签操作（全部或部分），这样最终产品的机械加工性和稳定性就可以确认，并在主要的容器一封口系统文件中注明。

当前，FDA 与制药工业合作建立了一套指导程序，以加速附有或不附有工艺放大变更的批准。目前，批准后放大变更（scale-up post approval change，SUPAC）项目涵盖了以下产品类别：

- 速释固体制剂（IR）；
- 缓释固体制剂（ER）；
- 延时释放固体制剂（MR）；
- 半固体制剂（SS）；
- API 改变称为 BACPAC；
- 包装改变称为 PACPAC；
- 分析方法改变称为 AMPAC；
- 无菌溶液称为 SUPAC-SAS。

如果这个程序成功，其他剂型随后也会被加入。

覆盖了以下的变更：

- 成分和组成改变；
- 生产设备和工艺改变；
- 批量改变；
- 生产场所改变。

程序由三个层次构成：

- 层次 1 或微小改变，不需要 FDA 批准或进行年度报告（AR）的；
- 层次 2 或中等程度改变，改变前向 FDA 提出 CBD 补充申请并在 30d 内得到回复的；
- 层次 3 或重要改变，执行变化前向 FDA 提出预先核准申请（PAS）并必须获得 FDA 批准的。

这个新的程序已经有一个好的开始，还需要恰当的工艺验证研究和文件来支持要求的变更。

变更控制

正式验证前、验证中以及完成后都应建立变更控制程序。变更控制体系在工艺开发中持续发挥作用，并提供必要的文件记录以确保即使发生细小且不关键的调整，工艺仍处于有效，运作状态。这些发生在原料、方法和设备上的微小、不关键的变化应该由验证小组（研发部、工程部、生产部和 QA/QC）审核，以确保在要求的详细变化发生前，工艺的完整性和可比性被维持和记录，并能获得质量控制单位的批准。

基于标准操作规程（SOP）的变更控制系统还可作为媒介或工具，使工艺改良的进行更容易、更顺畅，而不需预先由 FDA 的 NDA 和 ANDA 部门进行正式审核。如果有更多涉及 NDA 和 ANDA 这些化学和生产控制部门的补充程序，可以通过恰当的安全保障纳入年度总结文件程序的话，工艺验证会变得更赋有创新性[20~22]。

不合格

当前制药行业最重要的技术问题也许是：工艺或批次的什么失误导致了检测不合格？产品和（或）工艺失误的概念在 cGMP 中出现了两次[3]。根据 21 CFR Sect. 211.165 (f)，“不符合药品标准或规范以及其他相关质量控制标准的药品将被剔除。”在 CFR Sect. 211.192 中规定：

任何没有解释的偏差（包括理论收率超过确定的主产品收率和控制记录），整批产品或其中的任何一部分不符合相应的任何一个标准，都应被彻底调查，不论这批产品是否已经被分发。调查应扩展到同一产品的其他批次或涉及特殊失误或偏差的其他药品。应编写书面调查报告，且报告中应包括调查结论及贯彻执行的解决措施。

确定产品和工艺失误的关键是核实报告中不正常检验值的准确性、关联性和重现性，测试结果，报告记录数据[23]。首先所有的公司都应有一套 SOP，以便对质量检测的不正常数据进行验证并得到调查结果报告，其次还应有一套按下列步骤表述的追踪 SOP：

（1）不存在检验误差时，全面调查的书面程序。

（2）正式调查时再检验和再取样的科学标准。

（3）关于不合格结果的可能原因的正式调查的描述和结论。

（4）调查中所有相关测试的结果。

（5）排出任何不合格检测结果和接受有问题批次的科学依据和理由。

（6）最终决定依从的恰当规范和采取行动的理由。

（7）最终决定和行动的责任人签名。

尽管批放行和拒收的决定权在质量控制部门，但是验证委员会应该参与不合格调查过程评价并提出行动建议。

清洁验证

根据 21 CFR Sect. 211.67 中有关 cGMP 设备的清洁和维护的规定[3]，设备和容器必须清洁和维护，并定期消毒，以避免故障或污染，否则可能会改变药品的安全性、一致性、药效、质量或纯度。必须建立和执行书面的设备清洁和维护程序。程序应包括（但不仅限于）清洁和维护责任的分配；恰当的维护、清洁及消毒日程；清洁方法、清洁设备及清洁和维护用材的详细描述；必要的拆卸和组装方法，以保证正确的清洁和维护；清除前批次残留的鉴别方法，保护设备使用前不被污染；使用前检查设备的清洁情况。应保留设备的维护、清洁、消毒和检查记录。

对设备和容器的清洁进行验证的目的是降低产品的残留，使其低于指定的限度，从而保证使用同一设备生产的前一产品的残留物不会影响后续产品的质量和安全性。

根据 21 CFR Sect. 211.63 中有关 cGMP 设备设计、规格和安置的规定[3]，用于药品生产、加工、包装和保存的设备应该恰当地设计，确保大小适合并被合理安置，以便进行预定的操作及清洁和维护。某些设备在设计时应考虑要清洁的表面类型（不锈钢、玻璃、塑料），使用一次性的或专用的设备和容器（袋、滤器等），固定设备（储罐、混合机、离心机、压片机等），特殊设备（在线清洗系统、在线通蒸汽系统），和确定设备不易清洁的部位（称为热点或关键部位）。

对于特定的清洁程序，应详细说明使用的清洁剂和溶剂的数量、类型。清洁程序应给出关于被清洗物和如何清洗的全部细节。清洁方法应该针对最坏情况确定，如最高浓度、最低溶解度、最难清洁处方。清洁程序应确定使用和清洁之间的时间间隔、清洁顺序、设备拆卸程序，需要的外观检查和文件支持。

特定分析方法［HPLC、TLC、分光光度法、总有机碳（TOC）、pH、电导率、质量分析等］和取样技术（药签和纱布直接擦拭法，淋洗法）的选择取决于确定的残留限度、取样点、残留物的种类和设备构造（关键部位与大表面积）。应对所采用的分析和取样方法进行特异性、灵敏度和回收率验证。

确定的残留限度必须可行、可实现、能证实和保证安全。药品的药效、降解产物、清洁剂、颗粒和微生物都应加以考虑。

残留限度建议如下：清洁后，残留量不超过（NMT）10 ppm，或在其他产品最大日剂量中含有不超过此种产品剂量的 0.001%，且设备表面无可见残留物。

药用辅料

药物赋形剂是 USP/NF 认可的药品和固定活性成分的组分。下面是固体制剂关键辅料的列表：

稀释剂、填充剂和黏合剂
- 磷酸二钙
- 葡萄糖结合剂
- 糊精
- 乳糖（无水，速流）
- 甘露醇
- 淀粉（玉米）
- 可压性蔗糖

片剂崩解剂
- 微晶纤维素
- 交联羧甲基淀粉钠
- 交联聚维酮
- 羟甲基酸淀粉钠
- 预胶化淀粉

片剂、胶囊剂润滑剂
- 硬脂酸镁
- 轻质矿物油
- 聚乙二醇
- 硬脂富马酸钠
- 纯化硬脂酸
- 滑石粉
- 氢化植物油

其他赋形剂
- 羧甲基纤维素钠
- 邻苯二甲酸醋酸纤维素
- 乙基纤维素
- 羟丙基纤维素
- 羟丙基甲基纤维素
- 羟丙基甲基纤维素酞酸酯
- 甲基丙烯酸共聚物
- 聚山梨酯
- 聚醋酸乙烯酞酸酯
- 聚维酮
- 十二烷基硫酸钠

活性药物成分（API）

一种供药用的化学物质就是活性药物成分。然而，管理机构对 API 生产和验证的重视远比 UPS/NF 辅料更多。

根据食品、药品和化妆品法案 501(a)(2)(b)部分的规定，药物的生产、加工、包装和储存必须符合 cGMP。API 和成品药没有区别。

Z

API 和成品药适用同一原理，包括设施和设备的确认（IQ/OQ 和 PQ）、清洁验证、水系统验证、无菌原料的微生物限度、无菌和无热原原料的生产、在线混合和总混、分析方法验证、实验室控制和在线检测、变更控制程序和再验证、返工、包装和贴标、稳定性检测。

1. 生产工艺

生产 APIs 有四个主要过程：化学合成、发酵、提取和纯化。流程图（图 3）和化学描述有助于了解这个生产工艺。生产工艺描述应当包括恰当的参数，如反应物或溶剂的加料量或体积、反应时间、反应温度、反应压力等。维持关键工序和关键操作参数以保证产品得率和质量在批间一致。

API 验证应该从一连串的单元操作（化学生产）中的哪一步开始呢？只要工厂中生产关键中间体，它们及其反应和工艺步骤就应该符合 cGMP 和工艺确认-验证程序。关键中间体就是具备基本分子特征的中间体，这种分子的特性通常与其立体化学构型有关，并被引入到最终 API 结构（基团）中。

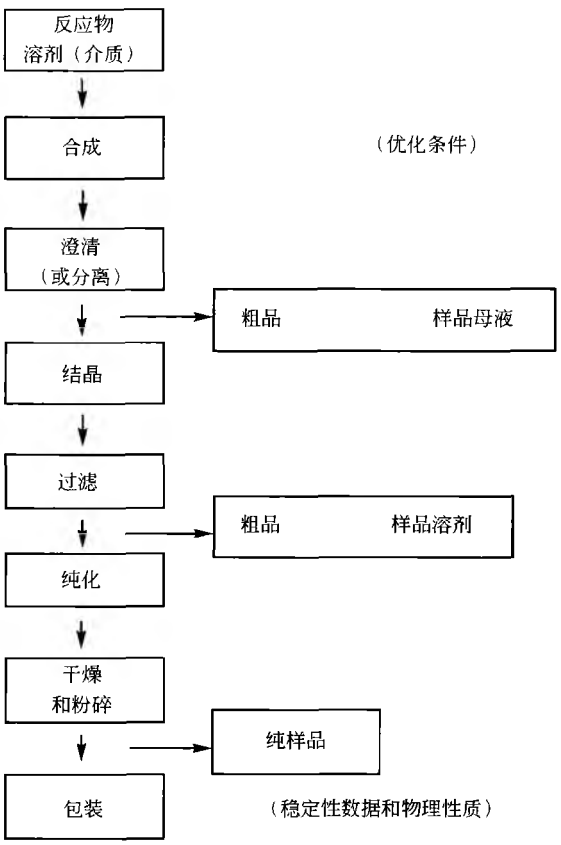


图 3 API 的生产流程图

2. 物理性质

除了纯度（化学效价）之外，API 的物理性质对其最终用户（药品生产者）也十分重要。如晶体构型、粒径和粒子形状、堆密度、熔点、旋光度等性质对最终产品的性能和稳定性均有重要影响。除反应或提取步骤之外，还必须对结晶、粉碎和混合单元操作进行确认和验证。

3. 杂质

USP 允许存在 2%的普通无毒杂质。但是，一旦杂质含量超过 0.1%就应当全部检定和定量。杂质包括起始原料、副产物、中间体、降解产物、试剂、催化剂、重金属、电解质、助滤剂和残留溶剂。对已知的有毒杂质必须严密控制，使其含量低于 0.1%。

4. ISO 质量标准体系

ISO 9000 体系是世界标准化组织（ISO）于 1987 年在瑞典日内瓦提出的。它是一组全面管理质量保证操作的管理标准，对不同公司都适用。

ISO 9000 质量管理和质量保证标准附带选择和使用指南，提供了基本定义和概念，解释了如何使用体系的其他部分（9001、9002、9003 和 9004）。

ISO 9001 质量体系——设计和开发质量保证模型，提供了设计、安装、维护、开发和生产方面的质量保证体系。主要适用于公司设计和开发它们自己的产品。

ISO 9002 质量体系——制造、安装和服务质量保证模型，适用于制造商、销售商和服务提供商，他们的产品由转包商设计和服务，使这些公司无需设计控制条件。ISO 9001 和 ISO 9002 都直接适用于 cGMPs。这两个独立体系之间的联系见表 5。除了语言之外，含义的外延和文件的重点都一致。

表 5 质量标准汇总

序号	ISO 体系	cGMP
1	管理职责	组织和成员
2	质量体系	组织和成员，实验室，管理，记录，报告
3	合同校阅	保存和分发
4	设计控制	产品和工艺控制
5	文件控制	记录和报告
6	产品购买	成分，药品容器，瓶盖控制
7	产品供应	保存和发放
8	产品鉴定，追踪	包装和贴标控制
9	工艺控制	产品和工艺控制
10	检查、检测程序	实验室控制
11	检测、测量、测试设备	实验室控制生产和工艺控制
12	检测、测试状态	实验室控制
13	不合格品控制	退货和销毁药品
14	校正	记录和报告
15	处置、储存、包装和运输	包装和贴标控制保存，分发
16	质量记录	记录和报告
17	内部质量审核	实验室控制
18	培训	组织和人员
19	服务程序	设备
20	统计技术	厂房、设施、产品和工艺控制

ISO 9003 质量体系——检查和测试质量保证模型，用于检测实验室和设备销售商，仅要求符合最终检查和测试程序。

ISO 9004 质量管理和质量体系原理——指南，为质量管理的计划和执行提供标准和指导。

参考文献

1. Berry, I. R.; Harpaz, D. Validation of Active Pharmaceutical Ingredients; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 2001.
2. Validation of Pharmaceutical Processes, Sterile Products. Carleton, F. J., Agalloco, J. P., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998.
3. Chow, S.-C., Liu, J.-P., Eds. Validation, Process Controls and Stability, Statistical Design and Analysis in Pharmaceutical Science; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
4. Gibson, W.; Powell-Evans, K. Validation Fundamentals; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1998.
5. Sucker, H., Ed. Validation in Practice; Wissenchaftliche Verlagsgesellschaft GmbH: Stuttgart, 1983.
6. Validation of Manufacturing Processes Fourth European Seminar on Quality Control, Geneva, Sept. 25 1980.
7. FDA. Guideline on General Principles of Process Validation, FDA, Rockville, MD, May 11, 1987.
8. FDA. Pre-Approval Inspection/Investigations Guidance Manual, FDA, Rockville, MD, Oct. 1, 1990; 7346.832.
9. Fed. Reg. 43 (190) Human and Veterinary Drugs, Current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Processing, Packing or Holding, Sept. 29 1978; 45, 014—45, 089.
10. Lucisano, L. J.; Franz, R. M. FDA Proposed Guidance for CMC Changes: A Review and Industrial Perspective. Pharm. Technol. 1995, 19 (5), 30—40.
11. WHO. Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products—Guidelines on the Validation of Manufacturing Processes, WHO, Geneva, 1993.
12. Skelly, J. P. Scale-Up of Immediate-Release Oral Solid Dosage. Forms. Pharm. Res. 1993, 10, 313—316.
13. Skelly, J. P. Scale-Up of Oral Extended-Release Dosage Forms. Pharm. Res. 1993, 10, 1800—1804.
14. Bolton, S. Process Validation for Hard Gelatin Capsules. Drug Cosm. Ind. 1984, 134 (3), 42—48—85—87.
15. Avallone, H. L. Development and Scale-Up of Pharmaceuticals. Pharm. Eng. 1990, 10 (4), 38—41.
16. FDA, Guide to Inspections of Oral Solid Dosage Forms Pre/Post Approval Issues for Development and Validation, FDA. Rockville, MD, Jan 1994.
17. Berry, I. R. Process Validation for Soft Gelatin Capsules. Drug Cosm. Ind. 1984, 134 (4), 26—35.
18. Nash, R. A. Process Validation for Solid Dosage Forms. Pharm. Technol. 1979, 3 (6), 105—107.
19. von Doehren, P. J.; St. John, Forbe F.; Shively, C. D. An Approach to the Characterization and Technology Transfer of Solid Dosage Form Processes. Pharm. Technol. 1982, 6 (9), 139—156.
20. Sucker, H., Ed. Validation in Practice; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH: Stuttgart, 1983.
21. Berry, I. R., Nash, R. A., Eds. Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; Revised and Expanded.
22. Chowhan, Z. T. Development of a New Drug Substance into a Compact Tablet. Pharm. Technol. 1992, 16 (9), 58—67.
23. Fahrner, R. New Role for Pilot Plants in Product Development. Biopharm 1993, 6 (3), 34—37.
24. Avallone, H. L.; D' Eramo, P. Scale-Up and Validation of ANDA/NDA Products. Pharm. Eng. 1992, 12 (6), 36—39.
25. Bala, G. An Integrated Approach to Process Validation. Pharm. Eng. 1994, 14 (3), 57—64.
26. Chapman, K. G. A History of Validation in the United States, Part I. Pharm. Technol. 1991, 15 (10), 82—96.
27. Akers, J. Simplifying and Improving Process Validation. J. Parent. Sci. Technol. 1993, 47, 281—284.
28. Tomamichel, K. Pharmaceutical Quality Assurance: Basics of Validation. Swiss Pharma 1994, 16 (3), 13—23.
29. Bolton, S. When is it Appropriate to Average and its Relationship to the Barr Decision. Clin. Res. Reg. Affairs 1994, 11, 171—179.

（马少华 译）

制剂技术转化的考虑因素

Ira R. Berry

Duramed Pharmaceuticals, Inc., Somerset, New Jersey, U. S. A.

引言

有关药剂产品的技术转化研究已有一段时间了[1~11]。本文论述了从研究阶段到生产再到质量保证环节的技术转化需要考虑的问题。主要讨论了产品转化项目的协调和实施，并强调那些制药工业所特有的因素。任何项目的成功主要取决于在实施项目前进行有效地交流。因此，在规模扩大之前必须准备和分发一份完整的文件，内容包括：原材料和仪器要求、生产和包装工艺、工艺验证参数、质量管理程序和安全操作程序，以及详细的行动计划、预期结果和时间框架。来自市场和生产中心的信息必须整合到计划中，以确保在期望的时间段内以合适的价格生产出合适的产品。此份概要应包括转化项目中各个关键方面。

无论是片剂、透皮贴片、外用软膏还是注射剂，一个制剂从雏形转变为成功的产品需要各个部门的合作。为了有效地完成此任务，一个产品从研发到生产的转化需要有效地组织。商业化过程的筹划是会获得回报的。项目从研究平台到生产的成功转化不会自发完成。组织一项技术或新产品从研究到生产的转化是一个极其复杂的过程，需要开发科学家、工程师和市场人员的共同参与。本文就一些有关项目转化过程应该考虑的问题提出了见解并提出了完成任务所需做的一系列事情。

主要的决策集中在思路或过程从研究到商业化的定位的转化。通常，产品开发的费用会在中试放大和最初批生产中急剧增加。换而言之，成功的关键取决于能否以可负担的费用完成技术到生产的成功转化。

有效的技术转化需要考虑三个主要因素：计划、参与的人员和实施过程。设计的计划应能安排好员工和实施步骤。一旦制定计划，必须让公司层面的以及生产场所的所有参与研究的员工知道计划。任何一个项目的成功在很大程度上取决于实施项目前的有效沟通。因此，确认参与开发过程的团体是一个重要任务，必须在转化过程早期完成。

人员

必须通知参与人员他们分摊的任务和责任，这将有助于确认可能阻碍任务完成的潜在问题，最好委任一个来自研究或开发小组的项目领导或联系人作为交流模式的中心。他负责协调收集支持产品工艺开发所必需的信息。要避免委任一个人却不授予他与其责任相称的权力。建议一个有经验的项目经理搭配一个经验不足的未来项目协调者。通过这种方式，能够培养队里的新组员，一个成功管理者的交流和沟通技能也能够在组织内分享。另一方面，也有助于及早发现那些实际不具备独立承担充满压力项目所需能力的人，更为重要的是，能够避免一个可能成功的项目的失败。

通过培训，这种一对一的接触方式提供了一个分享想法、技能和观察的独一无二的机会。如果适当地以双向评价的方式组织，两个参与者都能获益。然而，不是每个人都适合教练的角色。必须用心为生手选择和配备教练。也许人力资源部经理可以帮助确认哪些人具有教练职位所需要的人际交流的技能。

产品开发领域的信息应该从配方设计师、分析和微生物试验小组，以及包装开发部收集。这些小组的议题下面再讨论。在规模扩大之前，应该完成来自于毒理学小组和工业卫生学家的安全评价。在现今的管理体制下，需要提供一份简要明了的摘要，其内容涉及风险以及恰当处理包括活性药物和辅料在内的所有化学物质的操作程序。不提供足够的信息给那些不熟悉处理、称量或工艺操作的员工可能会导致不幸的工伤事故。雇员有权利知道，雇主有义务提供必要的警示和培训以减少员工的危险。不恰当培训或警示所造成的法律结果不在本文范围之内。

应该向专利部门或专利律师征求意见。随着关贸总协定（GATT）的实施，专利拥有新的意义。不仅在美国（专利法的主要修订已开始实施），而且在其他许多国家（那里专利可能是没有物质价值的或者是非强制性的），这条条例的影响广泛。通常，专利自开始申请之日起有 20 年的有效期，经申请并达到一定的标准，允许有额外的保护期以延长专利的有效期。总之，必须注意保证一个新的想法已获得适当的法律保护。

为了申请药品批准或引入一个产品到市场，药品管理事务部门也必须参与产品转化来确定需要多少信息或何种信息。目标是收集适当数量和种类的必要数据（公司以内或以外）以支持必要的文件提交。

公司的办公人员通常由来自生产计划部、工程小组、新产品协调部门和市场部的员工组成。由于每个部门都是项目成功的既得利益者，因此应从公司的层面上明确这些人的需要以尽可能减少由于“不知道现在该干什么”引起的延误。在项目转化中可能需要开始着手诸如产品标签的准备、广告和宣传单的复印、包装图片等活动，不至于失去宝贵的领先时机。在某些公司，接受或批准过程既费劳力又耗时间。这是一个需要详细计划时间和事项的环节，因而对一个项目的及时完成具有重大影响。

使公司的所有参与者获得信息是项目管理者使产品最终被公司接受的至关重要的任务。因此，任何花在给公司层面解释项目转化有关步骤的时间是非常必要的，就像任何一个教育过程的连贯和重复的强化学习一样。管理者有义务加强研究部门和公司核心之间的合作，因为时间的损失是一个组织所面临的最可怕的敌人。

生产场所必须由一些人组成一个团队，以保证转化工作及时、有效地完成。必须告知工厂管理者、技术指导者、产品计划小组、生产区监督者和质量控制、质量保证部门以及生产工程、包装和运输监管者他们的责任。如果生产需要新技术，必须考虑对员工进行培训。流水线技工和化学操作人员对项目所做的贡献也是很重要的。他们每天完成必要的生产职责。他们的意见和实际经验是不可忽视的无价资源。

产品转化的成功取决于项目领导者激励员工朝一个互惠的目标努力工作，即引入一个既能改善消费者健康、创造就业机会又能增加公司利润的产品。

激励参与者

参与的回报是通过一种履行责任和任务的变革机制而实现的。变革包括生产新产品或使用新方法生产现有的产品。通过组织员工策划变革、讨论完成任务所必需的资源、创造有利变革的环境，项目管理者应该努力以可靠的质量和承担得起的花费快速有效地完成项目。同时，那些努力工作完成项目的人应该分享团队的精神和成就感。参与获得回报包含着这样一个哲学，即雇员是任何技术引进或产品批准成功的关键因素。项目管理者必须牢记在心，因为他们常常依赖不在他们直接管辖下的部门的合作完成目标。

转化前的思考

任何产品进展到工厂规模扩大之前必须满足一些前提条件。首先，市场部门应该审查提议的产品原型并且认定产品能满足他们的需要。其次，挑选目的商业包装外形。虽然以不同的形式包装首批放大的产品是常见的，项目领导者有义务减少不必要的包装。第三，必须确认任何花费或时间等限制因素并引起足够的重视。

有一个非常重要的问题，就是这个产品是否满足消费者的需要。开发部职员相信他们可捕捉到市场对他们产品的关注，然而市场和销售部门必须与之达成共识。这种决定往往取决于销售部，因为他们负有提供产品给消费者的责任，更重要的是，他们有责任保证产品满足消费者的需求（真实的或是认为的）。规模扩大之前应该完成任何有关的小组或市场研究。这些研究有助于确认产品概念和市场生存力。

产品包装的数量发展到商品化时，开发项目的花费将极大地增加。应根据包装的组成及可获得性，选择适当的包装大小、瓶塞、颜色和瓶颈大小，以及打算使用的剂量和每剂量的花费。举个例子，一个较小的剂量可以使用一个月，比如月包装，对于口服避孕药具有市场意义。配方和零售通常是周期性的和可预期的，还有利于制定更优的利润计划。月包装和每月消费的方式不仅能使产品获得消费者更好的认同而且还能提高患者的顺应性，这尤其适合昂贵的药品。相比之下，吸入气雾剂剂量由于长期使用，往往包含可以使用数月的足够剂量。特别强调，市场部门应同经济分析家一起决定产品的最佳包装结构和花费，可以提高消费者的认同度并方便消费者，使剂量的回收、利润和资源利用达到最佳。

限制因素总会存在，偶尔会不能准确而快速地传达。市场竞争往往造成产品引入的截止期以及制成品的成本约束，这在开发项目的起始期应予以考虑。另一方面，执行时间计划表时必须重视人力物力资源的安排。如果没有事先规划，任务根本不可能完成。影响决策的因素可能来自外部或内部。必须注意那些可能影响项目及时完成的因素。

在规模扩大之前，应该表征原料和制剂成品的物理化学性质。拥有有效的方法用于比较不同批次生产是必要的。举个例子，药物释放曲线和黏性有可能在规模扩大时因生产程序和设备而改变。必须注意保持期望的曲线和其他产品规格。应密切监测批量大小和工艺扩大的影响。

处方和/或先进的给药系统比如微囊、透皮贴剂或脂质体的开发通常在实验室完成，但是，这些剂型的大规模生产可能会出现问题，因为工厂里可能达不到相同的生产条件。在原型开发阶段的最后过程中，向项目开发人员咨询是一种减少规模扩大困难的途径。

有时，开发员工会忽视同提供技术或服务的卖方签署保密协议的必要性。应要求所有立约者执行保密协议特别是包含正在开发的技术或产品的协议。双方的法律机构和执行官员应该准备、审查和执行这些文件，特别是当技术或产品不能很好地界定，还没有可靠的专利保护时，比如发展新的、专门的给药系统或新的化学实体，必须迅速完成这项任务并且只有当这些协议开始执行之后，才能开始其他工作。

项目转化

任何开发和技术转化项目应该简化成一份如图 1 所示的书面文件。必须编写一个概要或清单以保证已经考虑到相关问题。这将有助于保证所有部门都能以相同的视角和重视程度看待任务。必须指定一个生产场所并通知合适的人员参与。收集必要的信息并分发给参与的各方。至少，提议的处方、生产和试验程序和安全操作事项的复印件应分发给他们，并允许有充足的时间用于审查和讨论。在有来自研究、公司、市场、生产、质量保证、法规事务和工程部门的代表人员参与下，进行计划审查会议。选择合适的会议时间和地点以鼓励最多的人参与。

Z

活动	完成日期 目标	实际情况
1. 选择处方	——	——
2. 建立试验生产场所	——	——
3. 计划会议日程	——	——
a. 开发报告的审查	——	——
b. 生产处方/操作步骤	——	——
c. 操作及安全问题	——	——
d. 原材料规格和供应商	——	——
e. 包装程序	——	——
f. 包装组件规格和供应商	——	——
g. 检验步骤和验证	——	——
h. 工艺验证方案	——	——
4. 建立试验生产日期	——	——
a. 生产	——	——
b. 包装	——	——
c. 质量保证检验	——	——
d. 现场回顾	——	——
e. 样品运输到 R&D 检验	——	——
5. 运输日期	——	——
a. 结果的确认	——	——
b. 开始稳定性实验	——	——
c. 产品评价	——	——
安全性	——	——
有效性	——	——
药物释放	——	——
6. 生产后审查会议	——	——
7. 收集最终中试生产文件	——	——
a. 生产	——	——
b. 包装	——	——
c. 操作和安全程序	——	——
d. 质量控制规格和分析方法	——	——
e. 稳定性数据	——	——
f. 材料安全数据清单	——	——
g. 贮存期推算	——	——
h. 工艺验证总结	——	——
i. 参考资料	——	——
8. 验证报告的审核	——	——
a. 研究和开发	——	——
b. 生产	——	——
c. 工程	——	——
d. 质量保证/质量控制	——	——
e. 法规事务	——	——
f. 公司	——	——
g. 市场	——	——
9. 发布最终产品规格	——	——
10. 第一批商业化产品	——	——

图 1 项目技术转化清单[1]

由项目负责人主持会议，他/她有责任确定讨论的相关问题、遵守分发的会议议程并且形成会议的备忘录。应该重视和讨论会议中出现的问题，因为会议的目的是用参会者的经验发现项目中潜在的问题。会议应达成一致意见但并不专制。项目领导者必须在言行上强调激励，交流和合作。这是完成主要项目目标的第一步，即一个新产品从研究向生产的及时转化。计划会议应该讨论以下主题：

- 处方操作和安全事项；
- 原材料；
- 生产设备；
- 生产注意事项；
- 生产程序；
- 包装；
- 工艺验证；
- 原材料、包装组件和中间体及成品的规格；
- 分析方法的验证；
- 法规上的因素；
- 返工程序；
- 运输。

应该审查每一个方面以保证已考虑到关键问题。如果某方面没有涉及到，应说明它不适用于这个项目。在一个部门认为是无关紧要的问题在另一个部门中可能是至关重要的。对于新药和给药系统，该工作对项目的成功是非常关键的。

处方

理解一个处方，包括它的外延和局限是任何开发项目的第一前提条件。审核组成成分并解释它们在处方中的功能可以确立处方的可行性。评价一个样品时重申产品的要求和物理性质使规划会议的参与者能够重视产品的外观和属性。

同参会者一起审查毒理学小组和/或工业卫生学家完成的安全评价，因为作为管理者将极有可能承担保护员工安全的责任。告知他们可能受到的潜在危险可以进一步维护员工的知情权。

通过起草材料安全数据清单传达预先要求的安全信息，对于新药物活性和新药品更要如此。文件的起草可能会产生这一问题：该产品的加工操作程序是必要和恰当的吗？生产药品的员工应对试剂毒性的内在风险和因暴露而产生的潜在危险有概念。由安全责任人决定这个新药和/或产品应该在开放的环境、限制区域还是在隔离条件下操作。总而言之，必须由生产和测试部门责任人审查和批准这些程序。

应该介绍初步稳定性和成品的稳定性资料，作为新产品化学稳定性的概况。这些资料有助于估计处方的贮存期和扩大规模生产时通常会遇到的产品承受加工冲击的能力。应讨论成品的毒性。这些信息可确保已作出的有关处方操作的决定是基于已有的数据和经验。可通过草稿或试验性安全数据清单分发这些信息。

应该审查具体的组分或组分的来源、产品的花费以及生产设备等所受的限制。进行处方优化时必须考虑到这些

限制因素。然而，处方优化最好在生产环境中进行，因为批量和生产设备有时会使实验室可行的小规模处方在工厂几乎难以操作。从实验室生产和规模扩大的批生产中获得的经验是无价的，应同参与者，特别是生产和质量保证人员以书面报告和会议的形式分享。

许多公司使用实验室开发报告记录这些活动，这些数据可以并入完整的项目开发记录。对于新药品，注册申请需要这些开发记录。任何摘要报告中的必需细节主要取决于开发过程中遇到的问题的程度和所处的公司结构。对于跨国公司，产品开发报告被认为是在全球推广新产品收益的基础。

原材料

确认原材料的来源，特别是要弄清那些对新产品功能起关键作用的原料。弄清原材料的可获得性和费用对订计划会有帮助。必须注意确保新药活性物质和辅料来源于持有有效的 FDA 批准文件和药物主文件的供应商。

要预先向选定的厂家提供检测资料，内容包括确定一批产品的化学和微生物完整性的分析方法，这样可以对供货使用这些方法。对材料的处理（包括贮存、丢弃）和员工注意事项，特别对于新的或有潜在危害性的材料应予以记录。获得所有使用材料的安全数据清单（MSDS），并在职工接触前分发给他们。

生产

1. 设备

当在实验室里开发新药和新的给药系统时，所需生产设备的相关性可能会非常糟糕。比如，用实验室的设备能得到粒子大小合适的乳剂，在选择能重现该产品性能的工厂设备时会遇到严重的困难。自动记录实验室混合机的速度不足以完成这个任务，确定操作原理和设备设计是完成这项任务所必需的。

药品生产的任何设备，包括包装，应该进行设备评估，包括安装、操作和性能是否合格，要有一个书面的方案。这是工艺验证的重要步骤。通过验证，记录操作参数和设备相应的性能。此外，如果这个设备的主要部件损坏，安装一个已知规格的替代元件可以不用再验证该设备生产的每个产品。然而，设备在重新投入使用之前，必须满足它以前的操作性能。

应该专门确认所需设备的可获得性、大小、表面或组成部件，因而规模扩大能够代表一次生产运行。在选择规模扩大设备之前，需要完成接触表面相容性的初步筛选。鉴于其他的要求，如维护和设备占地面积，设备的放置也是选择设备时需要考虑的因素。考虑其清洁性以确保没有活性药物成分或清洁剂残留且设备适合再使用。可考虑使用替换设备，但是，应靠经验辨别是否合适。

2. 预防措施

规划时应该讨论任何有关员工操作仪器或处理产品的问题，关于环境（粉尘污染或无菌）或空气（氧、温度或光敏性）的问题尤为重要。

3. 操作步骤

操作步骤应该简单明了，必要时详细描述。举个例子，“让乳剂通过 0.005 英寸（0.12mm）的胶体磨”更适于描述仪器一般的性能。使用某仪器时应按设计和操作原理所描述的方法进行工艺验证。

操作步骤应该是切实的，任何说明指示必须和规模适应。生产区可能需要具体的参数。例如，冷却或加热时间通常取决于仪器，在实验室花 15min 冷却 1kg 物质在工厂可能需要花 4 小时冷却 40，000kg 批产品。类似地，实验室里小批量产品的过滤可能不会提供预测大规模生产所需的过滤时间或流速。

基于中试规模扩大获得的经验制作工艺流程图，有助于确认需要工艺验证审查的环节和问题。此外，从整个工艺的角度考虑，需要人工操作的时间选择，比如过程测试，通常会更明显。

中试规模扩大中确认的工艺优化参数在大规模批生产中需要监控。通过这种方式，实践经验可以应用到未来的批生产中。更多的优化实验可以有效地编入工艺验证项目。

4. 包装

在扩大生产规模之前，工厂应得到包装结构的性状、规格和测试方法。任何规格的功能应通过实际应用测试。工厂使用的包装设备应做可行性、速度及接触表面相容性评估。表面相容性的初步评估，正如前面所讨论的，应满足包装设备适用性的早期指标。

为了保证必要的上市包装中具有代表性的包装组件的可用性或交货时间，往往注重计划的时限。包装成本和可能的替换包装可以由批生产的部分产品评估。由此，可避免由于不合适的包装导致项目的失败。在这个过程中，必须衡量随之而来的资源消耗和增加的项目花费。

对于一批产品不同的包装灌装的数量可能是关键的。举个例子，对于仿制药物，整个批量必须灌装完才能使这批产品能被 FDA 批准。虽然这批产品能灌入较多的包装形式中，必须注意每种形式灌入足够的量，以保证能合理使用仪器的设置且使用的填充速度可以代表大规模生产。

应该审查包装这个批次的操作步骤，包括灌装的公差和预防措施，比如无菌操作或氮气处理，用以预先确定可接受的要求。作为大规模生产的一部分，必须评估包装产品在贮罐中的稳定性，以确定在包装之前批产品贮存时间的限度。这对于在一个地方生产而后运输到另一地点包装的大批产品极其重要。贮藏容器的相容性也应得到适当的重视。

最后，应在可能影响产品完整性的操作问题和安全问题上指导参与包装的员工。不管为了开发新的包装格式，

比如对于鼻腔内给药或透皮贴剂，或对传统的给药系统，如盒、溶液或气雾剂，还是为了转化项目的成功，对参与生产的员工进行教育是必需的。确认和控制工艺变量是必要的，由此可以获得经验，优化和验证过程。

工艺验证

关于工艺验证，每一类的产品都有相应的问题要讨论。一般来说，需要验证可变的工艺步骤，比如混合次数和温度。已有很多文章描述影响药剂产品的工艺验证[12~14]。评价那些可能影响产品完整性的参数的方案应该由 R&D、管理机构、生产、QA 和工程职员一致通过。在中试批生产的制备和包装过程中，获得有关提高工艺的效率和减少批与批之间差异的数据是非常重要的。因为这些信息将作为支持新产品商业可行性的文件。同时，可以建立清洗步骤并完成清洁验证文件。

没有明确可证明工艺可行的批数，通常三批是可以接收的。技术的复杂性和产品对变异参数的敏感性指示所需验证项目的广度。需要强调的是，工艺必须是可控的和可重现的，可以生产出合格的产品。

质量控制和质量保证

如果中试批生产是可商业化的，中试批生产的一个目标是完整地将新产品引入到生产、包装和检验场所的功能区，即在这些场所完成原料药和包装组件以及加工过程中间体、未包装产品和成品试验的放行。

提出加工过程中间体测试、未包装产品及成品的标准。提出的标准应基于小实验和规模扩大批生产中获得的经验。在这段时间进行有关检验方法和标准的讨论。工厂里必须具备完成检验所需的试剂和仪器。建立同 R&D 分析实验室的联系以解释奇异的值或解答问题。

同质量控制部门交流所需的时间和人力不容忽视。及时关注分析需求有助于中试批生产向前推进。如果需要在包装之前检验产品的微生物，项目时间的排定需要反映这个活动所需的时间（3～5 天）。

必须按统计学有效的取样方案安排放行和稳定性试验的取样，这对于稳定性研究尤其重要。以这种方式，所取的样品能够代表完整的批产品。

批文件记录是一个重要因素，符合工厂标准操作程序（SOPs）的主要批记录的制作需要有承办部门，通常是处方者或 R&D 部门的工艺开发人员的批准文件。批生产完成后，质量保证小组对批记录进行审查确保遵从 GMP，并恰当地解释和记录所有必要的偏离和修改批记录之处。

生产试验的时间排定

根据规划会议得出的结论，应该列出规模扩大前必须进行的所有活动并确认责任部门。讨论试验时间时必须考虑时间限制因素，原材料、包装组分的可获得性，工厂日程安排和人员。项目负责人具有协调人员和供应的责任。领导才能及同其他部门沟通的能力有助于按时完成实验。

最后，安排原材料和包装成品的运输，保证规模扩大按时完成并尽快进行稳定性研究。与会者离开时都应具有这样的印象：项目已作好计划和记录；有一个人在主管这个项目；委托将得到尊重。会议记录的早期发布将强化个人责任，并用于通知参与者及其上级他们的合作是征求过的、需要和期望的。

完工

回顾在生产场所需要完成的活动：

- 原材料和包装组件的放行；
- 试验批次的生产和包装；
- 中间体、未包装产品和成品数据的产生；
- 工艺检验，包括仪器确认和审查批记录、加工、清洁确认和现场经验；
- 成品到检验中心的运输。

与有关的工厂人员进行离场会谈，从而得到了一个听取他们意见的机会。应该感谢他们的努力，认真考虑他们的意见并加入到生产记录中。应记录当时不能解决的不同意见并作进一步的研究。必须使用倾听和交际技巧，因为这是一个合作而不是对抗会议。

在这次会议中，适合讨论可能修改的操作步骤。回收原材料，特别是昂贵的药物活性成分是可取的。考虑到操作步骤的检测、证实和生效，尽早确认可能返工的程序。对于药品，只有返工程序被正确记录、验证，经由责任公司和政府部门批准后才能进行。返工步骤不是处理不合格批产品的默认方式，而是确认可能成功完成试验的一种方式。总是后勤学和经济学决定是否应该返工。

生产后期活动和评价

一旦获得生产经验，应在 R&D 完成对以前在生产场所检测过的中间产品、未包装产品和包装产品的确证分析。通过这种方式，提议的方法经受挑战，在不同的地点经由不同的人员分析应得到相似的结论。必须调查并解决产生的数值差异。根据组织程序，将样品置于稳定性试验系统中。

最后，必须及时准备和发布报告，总结经验，审查每个环节的活动并提出建议，如有必要，变更工艺或控制方法。将项目进展情况及时和切实地传达给与规模扩大试验无直接关系的其他部门，比如市场、财政和采购部门，以引起他们的注意和利用资源。通过书面交流的形式鼓舞决策层。筹划和完成将产品引入市场所需时间必将大大减少，还能更好地利用资源。

应同来自 R&D、公司、市场、质量保证、法规事务和生产中心的代表举行正式的生产后审查会议。产品上市还

是递交政府待批准，如果这是研发计划的下一步的话，应根据成功完成规定的稳定性试验计划而定。会议的结果是关于产品制备涉及到的所有因素达成一致意见，同时产生并分发会议记录或签署的“一致声明”形式的证明文件。

应该收集、审查和分发所有相关文件以支持产品的引入。这个文件应该包括：

- 生产方案；
- 标签草稿；
- 原材料检验和规格；
- 生产操作步骤；
- 中间体检验和规格；
- 成品的检验方法和规格；
- 包装组件规格和草图；
- 包装组件测试方法；
- 未包装产品稳定数据；
- 成品稳定数据；
- 推算的保质期；
- 产品的材料安全数据清单；
- 参考文献。

储存期的推算应包含在建议失效期的文件中。虽然加速稳定性数据通常用来支持长达 24 个月的失效期，大于 24 个月的失效期要基于实时试验结果。

文献目录应收录所有项目报告和备忘录，包括开发和验证报告。项目负责人最好按日期顺序保留所有交流和报告的文档。把文件编成文献目录是一件烦琐的任务但能解决产生的问题。产品开发历史和检验记录通常保存在这些文献目录里。熟练的项目负责人保存进行中的项目列表作为跟踪项目的一种方式。制剂产品的文献目录可能卷数很多，所以索引会很有用。当在生产场所的监管下顺利地生产出第一批商业化产品时，就可以认为项目转化完成了。

总结

本文回顾了组织药剂技术从研究平台到生产环境转化需要考虑的问题。联系技术转化过程讨论了影响生产、包装、安全和药品质量的关键方面。强调使用来自不同组织中心的信息做计划的必要性。项目的成功主要取决于贯穿整个过程的交流和合作。

参 考 文 献

1. Popp, K. F. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 14, 419－432.
2. Amico, L. A.; Pilot Plant Operation. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C. Eds.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1995; 12, 187－207.
3. Franz, R. M.; Copeland, R. D.; Lewis, L. D.; Stagner, W. C. Pilot Plant Design. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boylan. J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995; 12, 171－186.
4. Groen, J. J. Project Management. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995; 13, 121－150.
5. Owen, V. M. Technology Transfer in the Diagnostic Industry. Med. Dev. Technol. (Lond) 1994, 5, 23－26.
6. Popp, K. F. Drug Dev. Ind. Pharm. 1987, 13 (13), 2339－2362.
7. Popp, K. F. Organizing the Transfer of Pharmaceuticals from Research to Production. Specialized Drug Delivery Systems-Manufacturing and Production Technology; Tyle, P., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; 37－50.
8. Rao, A. V.; Rajan, J. V. Transfer of Drug Technology from Laboratory to Industry. Eastern Pharmacist (India) 1985, 28, 63－65.
9. Testa, E. G.; Lepiti, S. Product Technology Transfer. Pharmaz. Ind. (Germany) 1981, 43 (12), 1231－1234.
10. Upupa, N. Research, Product Development, and Pilot Plant Scale Up. Pharmacy Times (India) 1990, 22, 63－65.
11. Evanoff, B. J.; Hofmann, K. L., Jr. Validation of Active Pharmaceutical Ingredients, 2nd Ed.; Berry, I. R., Harpaz, D., Eds.; Interpharm Press: Englewood, CO, 2001.
12. Berry, I. R. Process Validation: Practical Applications to Pharmaceutical Products. Drug Dev. Ind. Pharm. 1988, 14 (2 & 3), 377－389.
13. Berry, I. R.; Nash, R. A. Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993.
14. Berry, I. R.; Harpaz, D. Eds.; Validation of Active Pharmaceutical Ingredients, 2nd Ed.; Interpharm Press: Englewood, CO, 2001.

（陈 昂 译）

制剂中的流变学

Fridrun Podczeck

University of London, London, U. K.

引言

创建于1929年的美国流变学会将“流变学”定义为物质变形和流动的学科。变形描述了物质形状、体积的单独变化或共同变化。如果变形引起的变化至少具有部分的不可逆性，则物质发生流动。液体或固体物质可能形变的完整谱如图1所示。气态通常不作为流变学研究的部分。

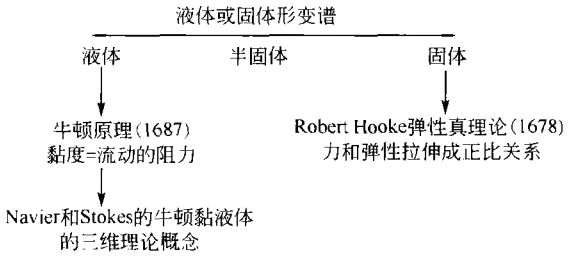


图1 牛顿和Hooke首先描述的液体（黏液）和固体（弹性）的形变，后由Navier和Stokes进一步加以发展。半固体物质具黏弹性，即在低张力速率时为黏性，在高张力速率时为弹性

典型的现代流变学研究不考虑在Navier-Stokes模型或全弹性固体意义上的牛顿流体，而是关注介于这两种极端情况之间的材料行为[1]。但是在药物科学上，牛顿行为及其表征是很有意义的，并且在各种药典中描述的方法学和装置为药物的质量提供了标准。

流变学方法在医药科学和生物科学中的意义越来越重大。一些体液如黏液[2,3]、唾液[4]、血液[5~7]或滑液的流变学行为改变可以作为疾病的严重程度，或用来治疗如黏稠物阻塞症等医学状况的药物效力的指示。原料的流变学性质和处方能在制药、化妆品或是食品工业中剂型的生产引发一定的问题。例如，黏度高的材料需要更大的混合能。黏度可以通过加热而减小，也因此会减少混合的时间并改善产品的均匀性，但是，溶胶-凝胶转化并不总是可逆的，且在某些情况下，由于剪切作用而产生的热可能已经破坏了产品。运输和加工仍有可能导致产品黏度的改变[8]。混悬液黏度的降低可能会导致沉降作用的增强，如含有触变填充物的硬胶囊可能会开始泄漏。

药品的流变学性质对于患者的依从性也是很重要的。硬乳膏可能会使得其应用变得复杂或是引起疼痛，因此患者会越来越不愿意使用这种药。混悬液和乳液可以从瓶中流出而便于计量，如牙膏必须从管中很容易地挤出，且必须成线状而没有流体的渗漏。几种注射剂依赖于溶胶-凝胶转换，例如那些含有硬脂酸铝的药物。硬脂酸铝加入硬凝胶体中使得抗生素经肌内注射后能够缓慢释放。为了减轻疼痛，凝胶在摇动时必须变为溶胶，但是注射后必须迅速发生凝胶化以保持缓释。因此，流变学技术的知识在药物开发和研究中起着很重要的作用。

定义和术语

1. 应力和张力

变形是力作用在物体上或物体内部而引起的，但是其程度不是依赖于力本身，而是单位面积上力的大小，即应力（Pa或N/m^2）。体内的力作用是重力或惯性力作用，并且有效地贯穿整个物体。表面力沿材料外围作用于定点。

应力作用的结果，将改变物体外形，最经会导致物体长度的变化，即张力。关于应力和张力之间的关系如图2所示。

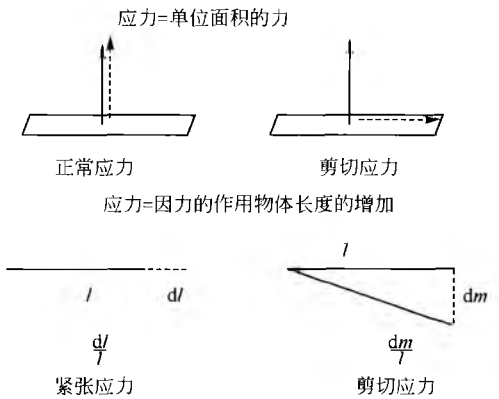


图2 应力和张力的定义和关系。正常力（实线）和正常应力（虚线）的向量在同一方向，而对于剪切则在垂直方向

在许多流变学测试方法中，样品受“纯剪切”的影响。最好的图示例子是堆卡片（图3）。如果将剪切应力τ应用于顶部的卡片（参考）上，每个卡片位移与其离参考卡片的距离成比例。距离越远，卡片移动越少。由两张卡片之间的分离引起的相对位移（$\delta l/l$）叫做“纯剪切张力”。

2. 张力速率和剪切速率

张力的速率（张力速率）将长度改变的大小看作时间的函数（s^{-1}）。对于拉伸张力，张力速率因此定义为$\dot{\varepsilon}=d\varepsilon/dt$，而剪切应力速率（剪切速率）定义为$\dot{\gamma}=d\gamma/dt$（图

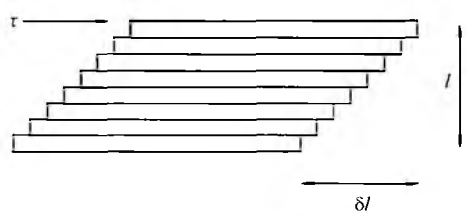


图 3 堆卡片示意的纯剪切。τ=剪切应力；l=两张卡片间的距离；δl=两张卡片相对的位移

2)。对于纯剪切，剪切张力速率可以解释为发生在样品流动时产生的速度梯度。但是对于流动路线为曲线的情况，速度梯度并不等于剪切张力速率。如此复杂的流动可以发生在同心圆柱黏度计中（如杯式黏度计和垂球黏度计），特别是对于较高的角速度和内圆柱旋转的情况（Searle 原则）[9]。当外围圆柱发生旋转时离心力会使流动稳定（Couette 原则），且不希望有湍流[10]。对于锥式黏度计，与大多数实用仪器一样，当使用小的锥/板角度时，背离层流的行为可以被有效的抑制[11]。

3. 弹性模量和依从性

对于 Hooke 体这样的理想情况，应力和张力之间的关系是完全线性的，且在应力取消后，物体会恢复到其原始的形状和尺寸。应力和张力之间的比率由弹性模量（Pa）来量化。对于正应力其比率因数叫做拉伸弹性模量或杨氏模量（E），然而对于纯剪切则叫做剪切弹性模量或硬度系数（G）。E、G、剪切应力和张力之间的关系定义为[12]

$$G=\frac{E}{2(1+\nu)} \quad (1)$$

$$\gamma=\frac{\tau}{G} \quad (2)$$

式中：ν 为泊松比。对于软固体和液体，其剪切应力要求的形状改变较应力要求的体积改变相对较小，ν 大约为 0.5[10]。因此，$E\approx 3G$。

拉伸和剪切弹性应力对于黏弹性测量非常重要，其中施加的应力较小。

依从性定义为弹性模量的倒数（Pa^{-1}）。因此，剪切依从性定义为 $J=1/G$，而拉伸依从性定义为 $D=1/E$。

4. 黏度

液体或半固体的流动由黏度来描述，更精确地说是剪切黏度 η（Pa·s）。黏度定义为阻止材料流动的阻抗力。黏度不是一个系数，因为其为剪切张力速率的函数 $\dot{\gamma}$ [$\eta=f(\dot{\gamma})$]。在经典的流体力学中，动态黏度可由黏度计获得（黏度计是一个流变仪，也就是流变性的测量工具，但仅限于测量黏度）。动态黏度与材料密度之间的比值为“运动学黏度”（$\nu=\eta/\rho$，m^2/s）。运动学黏度提供了流动速率的校正值并表征了流速。例如在工程科学中，此值被用于计算管中的流体通过量。

黏度的倒数叫做“流动度”（$Pa^{-1}\cdot s^{-1}$），是材料流动性的指示。

纯剪切中流变行为的类型

1. 牛顿流体

应力、张力和黏度之间的关系通常用所谓的流变图描述。在制剂科学中，提出了一种典型的流动曲线：$\tau=f(\dot{\gamma})$。在工程科学中，黏度通常绘制为剪切应力的函数[$\eta=f(\tau)$]。因为大多数黏度计控制剪切应力的施加而不是张力速率，这是有意义的。然而，感兴趣的是黏度作为剪切张力速率的函数[$\eta=f(\dot{\gamma})$]。

在下文中，避免了对诸如“液体”、“流体”或“半固体”的应力相似性和物质流变行为的差异的描述。

牛顿行为仅在理想黏性体中可以观察到。流动曲线表明剪切应力和剪切张力速率成正比，此直线通过原点[图 4(a)]。在剪切应力作用的整个范围内黏度为常数，且与剪切张力速率无关[图 5(a)]。当剪切作用停止后，材料的应力很快恢复为零，而且剪切作用重复作用时，得到相同的黏度值。即便延长剪切时间，牛顿流体的黏度也不变。因此，对于牛顿流体，黏度是在给定温度和时间下的一个材料常数。许多像水、甘油、脂肪油或有机溶剂这样的流体行为与牛顿流体相似。熔化的凡士林有牛顿流体的行为，而在室温下，凡士林为非牛顿流体。虽然许多液体材料行为表现为理想黏性，但是它们的混合物通常表现为非牛顿行为。

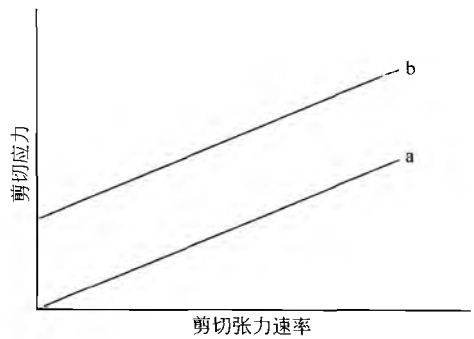


图 4 牛顿（a）和 Bingham（b）流体的典型流变图

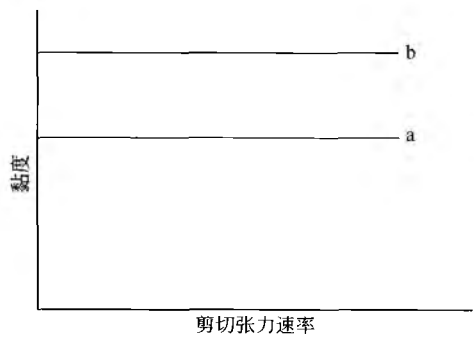


图 5 牛顿（a）和 Bingham（b）流体黏度与剪切张力速率的关系

Z

2. 非牛顿流体

2.1 剪切变稀（假塑性流动）

剪切变稀材料表现为随着剪切张力速率的增大其黏度减小。典型的流动曲线如图 6（a）所示，黏度与剪切张力速率的关系如图 7（a）所示。曲线表明在剪切压力值/剪切张力速率非常低或非常高的情况下黏度达到一恒定值。这两个区域通常称为较低牛顿区域（即较低的剪切张力速率）和较高牛顿区域（即较高的剪切张力速率）。表征较低牛顿区域的黏度也通常称为“零剪切黏度”。由于一些较老的设备的限制，较高牛顿区域有时不能由实验得到。

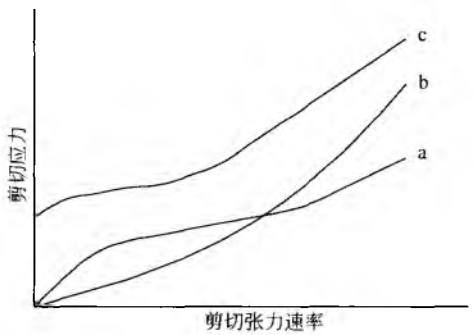


图 6 剪切变稀（a）、剪切变稠（b）和 Casson 流体（c）的典型流变图

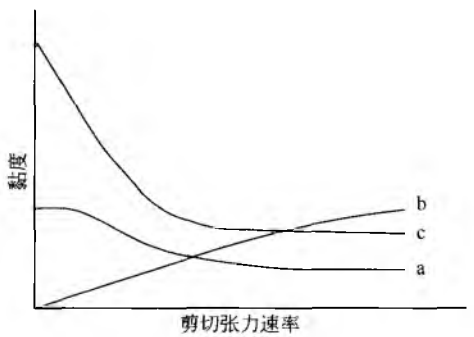


图 7 剪切变稀（a）、剪切变稠（b）和 Casson 流体（c）的黏度与剪切张力速率的关系

剪切变稀通常能在含有线状大分子如纤维素或无支链聚合物溶液中观察到。其中施加的压力使得大分子沿剪切力的矢量方向排列，导致流动阻力的减小，并因此导致黏度降低。在定向过程完成后，溶液表现为牛顿流体。

要预测包含较低和较高牛顿区域的剪切变稀材料的流动曲线形状，其数学模型需要至少 4 个参数。如 Cross 模型[13]：

$$\frac{\eta-\eta_\infty}{\eta_0-\eta_\infty}=\frac{1}{[1+(K\dot{\gamma})^m]} \tag{3}$$

式中：η_0 和 η_∞ 是较低和较高牛顿区域黏度的渐进值；K 为描述曲线陡峭程度的时间尺度常数；m 是描述总体曲率的无量纲常数。Boger[14]、Whitcomb 和 Macosko[15] 将 Cross 模型成功应用于大分子水溶液。

Carreau[16] 设计了另外一种通用方程来模拟剪切变稀行为，这已经成为 Cross 模型的常用的替代公式：

$$\frac{\eta-\eta_\infty}{\eta_0-\eta_\infty}=\frac{1}{[1+(k_1\dot{\gamma})^2]^{m_1/2}} \tag{4}$$

常数 k_1 和 m_1 对流动曲线形状的重要性，就如 Cross 模型中的 K 和 m。

由于实验困难而不能观察到较高的牛顿区域，Cross 和 Carreau 模型分别简化为式（5）和（6）：

$$\frac{\eta}{\eta_0}=\frac{1}{1+(K\dot{\gamma})^m} \tag{5}$$

$$\eta=\frac{\eta_0}{[1+(k_1\dot{\gamma})^2]^{m1}} \tag{6}$$

同样地，这两种模型可以通过忽略较低牛顿区域而简化。Sisko[17] 为了考虑轴承油脂的流变性质，将 Cross 模型进行了简化。

$$\eta=\eta_\infty+\frac{\eta_0}{(K\dot{\gamma})^m} \tag{7}$$

Sisko 模型在酸奶酪[18] 和聚合物液晶[19] 中的实际应用已经有报道。

考虑到许多情况下，所测得的黏度显著小于较低牛顿区域的值（$\eta\ll\eta_0$），或显著大于较高牛顿区域值（$\eta\gg\eta_\infty$），Cross 模型可进一步简化为

$$\eta=\frac{\eta_0}{(K\dot{\gamma})^m} \tag{8}$$

重新定义常数 $m=1-n$，$\eta_0/K_m=K_2$[1]，将这些定义应用于式（7）中就可得到所谓的“幂定律”模型

$$\eta=K_2\dot{\gamma}^{n-1} \tag{9}$$

式中：n 是幂定律指数；K_2 是一致性常数，Pa·s，因此很难用物理术语解释。K_2 值越大，材料越坚硬。n 值描述了流动曲线的曲率。$n<1$ 时是剪切变稀的非牛顿流体，$n=1$ 时是牛顿流体。我们应该注意到式（9）只是描述了流动曲线剪切变稀的区域，而没有考虑可能存在的较低或较高牛顿区域。

2.2 剪切变稠（胀性流动）

剪切变稠材料的黏度随剪切张力速率的增加而增加。一个理想的流动曲线如图 6（b）所示，黏度与剪切张力速率的函数关系如图 7（b）所示。与剪切变稀区域相比，剪切变稠区域仅延伸大约 10 倍于剪切速率区域（幂定律指数 $n>1$），而剪切变稀区域却延伸至少 20 或 30 倍于剪切速率区域。另外，许多情况下，在低的剪切张力速率时剪切变稠是从一小段剪切变稀开始的[1,20]。

剪切变稠是像浆糊、混悬液这些含有高浓度固体粒子流体的典型特征。然而，粒子的大小需小于 50μm。固体的浓度通常大于 50%，反絮凝的混悬液显示出剪切变稠。静止和低剪切力条件下，粒子被一层液体膜覆盖，这层液体膜就像是助流剂。在低剪切张力速率时，这层液体膜表现出剪切变稀。然而，大于临界应力的力可以破坏此液层。

固体粒子的相互接触和摩擦导致了黏度的增加，例如，剪切变稠。Hoffman[21]使用衍射光系统更详尽地研究了这种效应。

3. 复杂流动行为

3.1 Bingham 流体

对于牛顿流体，剪切变稀和变稠代表相对简单的流动形式。如果这些流动形式的发生与一个屈服应力有关，流动的描述就会变得更加复杂。例如，在适当短的时间间隔内观察到流体流动所需要的一个最小应力。观察到的屈服应力很大程度上与像凡士林或立方液晶那样具有精细的内部结构存在有关。

人们对是否真的存在屈服应力的怀疑由来已久。就像 Reiner 60 年前所说的那样“只要你等足够长的时间，一切东西都可以流动”[22]。Barnes 和 Walters 运用剪切张力速率控制的流变仪发现了 PVA 乳胶黏附剂的一个表观屈服应力。然而，当他们降低平均剪切张力速率时，屈服应力也成比例的下降。最后，当用应力控制的流变仪在很低剪切张力速率条件下测定这些材料时，观察到了牛顿流动和屈服应力的消失。因此，提出仅在特定实验条件下的“表观”屈服应力或许更好。

Bingham 流体模型所描述的材料在表观屈服应力以上表现出牛顿流体行为。如图 4（b）和 5（b）所示，分别表明了两种流动行为黏度是剪切张力速率函数的典型流动曲线。

絮凝混悬液在低的剪切张力速率条件下有高的黏度，这给人们有屈服应力存在的印象[23]。由于粒子相互联结作用使有效粒子数目显著降低，所以观察到了近似牛顿流体行为。

Bingham 流体模型在数学上可描述为

$$\tau = \tau_Y + \eta_P \dot{\gamma} \tag{10}$$

式中：τ_Y 是表观屈服应力；由于历史的原因，η_P 称为“塑性”黏度。

3.2 Casson 流体

Casson 流体模型[24]是半经验的模型。它描述了超过表观屈服应力后流体的剪切变稀行为。实际上，这个模型是表观屈服应力与幂定律模型结合的产物，而只是把幂定律指数 n 指定为 0.5：

$$\tau^{0.5} = \tau_Y^{0.5} + k_2 \dot{\gamma}^{0.5} \tag{11}$$

这种流体曲线的一个例子如图 6（c）所示，黏度与剪切张力速率的函数关系如图 7（c）所示。许多油状和乳膏制剂与延伸的较高牛顿流体区域有相似的流动曲线形状。在这些实例中，将流动曲线的线性部分外推至零级剪切张力速率，从而得到“动态屈服应力”[25]。

包含表观屈服应力的描述剪切变稀材料的一个更常见的数学模型是 Herschel-Bulkley 模型[26]：

$$\tau = \tau_Y + k_2 \dot{\gamma}^n \tag{12}$$

它也是幂定律模型的简单扩展。当 $n=1$ 时，式（12）就变成了式（10）。因此，幂定律和 Bingham 模型是 Herschel-Bulkley 模型的两个极限。

4. 黏度的影响因素

4.1 压力

牛顿流体和非牛顿流体材料的黏度随压力的增加而呈指数增加。然而，这种变化极小，在大气条件 ±0.1bar（bar 为非法定单位，1bar = 10^5Pa）时很难检测得到。因此，在流变学测定中通常并不控制压力。例如，在某些情况下作用在油和润滑剂上的压力能超过 1 GPa（石油钻塔，传动装置中的润滑剂），这时黏度的增加是可观的。因此在这种情况下，研究它们的流变学性质时就要求将压力作为一个影响因素。

4.2 温度

温度的增加会导致黏度的降低。对于牛顿流体材料这种关系近似于阿伦尼乌斯方程。要想得到精确度在 ±1% 的水的黏度，温度的变化应控制在 ±0.3℃[1]。对温度的依赖性随黏度的增加而增加。因此，黏度越大的材料，对温度控制的要求越高。样品本身的剪切也会产生热。为了保证这些热对改变样品和设备的温度没有影响，这些热必须很快地移去。

4.3 剪切时间

药物制剂常常是具有类似胶体结构的溶胶。例如，非支链线形高分子材料形成各个高分子链平行排列的骨架，这些链之间的范德华力使其具有更高的取向结构。无定形区域将这些高取向区相互分离。例如分别由斑脱土和二氧化硅胶体形成的薄片状或球状的胶体骨架。在所有的这些例子中，流动元素不能立即适应应力，因此就产生了剪切变稀现象。在剪切结束时，原始结构可能被完全破坏了。在许多情况下，静止时布朗运动可使内部结构重建，但另一些情况下，流变破坏过程是不可逆的。剪切力作用下黏度逐渐降低，原始结构逐渐恢复，这种现象称为“触变性”。触变性通常与剪切变稀的材料相关。对于剪切变稠的样品，有些情况下也可以观察到这种类似的滞后现象，这被称为“逆触变性”或“反触变性”。一个逆触变性的例子是含有半固体的聚乙二醇处方。

可以通过两种不同的方式检测到触变形为。在“分步试验”中，首先用固定的高剪切张力速率剪切材料，剪切张力速率在指定时间后降低到一个很小的值。高剪切阶段记录的剪切应力以剪切变稀的形式降低，这表明了结构的破坏。在低剪切阶段内部结构被重建，这导致了剪切应力的逐渐增加。另外，也可以用“循环试验”。循环试验得到的触变和逆触变材料的典型流动曲线如图 8 所示。如果高弹性的胶体骨架使用分步或循环试验，黏弹性对应力改变的影响就不得不考虑了[10]。

Z

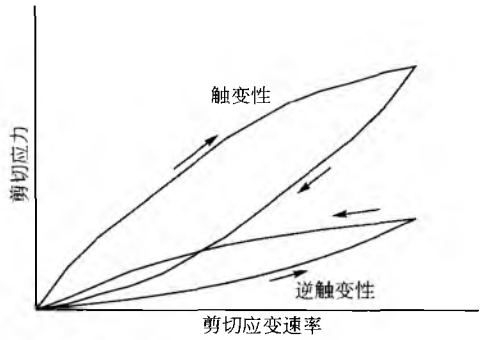


图 8 循环试验得到的触变和逆触变材料的典型流动曲线

线性黏弹性

1. 黏弹性的定义

样品对应力或剪切张力速率的特定响应依赖于实验时间的长短。如果剪切张力速率维持在低水平，许多材料表现出黏性，而在高剪切张力速率条件下，材料可能表现出弹性。材料黏性和弹性的同时存在称为黏弹性。我们可以设想自然界中的所有材料都具有黏弹性。

一个给人印象深刻的黏弹性材料是 Silly Putty®（弹性灰泥），它是一种以含硅高分子。如果把它丢在平面上，它会比像皮球弹回的更高；在低的压力下，材料可以容易地被压平并且能保持它的新形状。例如，把它放在桌子的边缘，由于重力的作用材料会像液体一样慢慢移向边缘。然而，大多数工作材料并不表现出这种极端的行为。

2. 线性和非线性黏弹行为

材料会表现出线性和非线性黏弹性。如果样品的响应（如剪切张力速率）与特定信号（如剪切应力）的强度成比例，即采用重叠原理，那么我们所作的测量在线性黏弹范围。例如，某种因素使剪切应力增加两倍，剪切张力速率也会增加两倍。所有的微分方程［如式（13）］都是线性的。这些方程中的常数，如黏度或刚性模量，当试验参数改变时它们并不改变。结果，试验变量可改变的范围通常相当小。试验员检查试验参数是否确实位于黏弹性区域就变得很重要了。如果做到了这一点，以黏弹性质为基础的材料质量控制要比简单的黏度测量具有更好的重现性。非线性黏弹性试验更难建模，因此与线性黏弹性模型相比，它的应用很少。

3. 机械模型

线性黏弹性一个常见的微分方程为[1]

$$(1+\alpha_1\frac{\partial}{\partial t}+\alpha_2\frac{\partial^2}{\partial t^2}+\cdots+\alpha_n\frac{\partial^n}{\partial t^n})\tau = (\beta_0+\beta_1\frac{\partial}{\partial t}+\beta_2\frac{\partial^2}{\partial t^2}+\cdots+\beta_m\frac{\partial^m}{\partial t^m})\gamma \quad (13)$$

式中：α_i（$i=1$，…，n）和 β_j（$j=0$，…，m）是常数；τ 和 γ 分别是剪切应力和剪切张力。

为了得到一些简单的线性黏弹性模型，有必要介绍一下牛顿流体和 Hooke 流体的机械当量。首先，假设在式（13）中 β_0 是唯一非零的常数：

$$\tau = \beta_0\gamma \quad (14)$$

这个方程描述了 Hooke 弹性，$\beta_0=G$（G 是刚性模量）。图 9 显示了代表式（14）的经典的机械弹簧模型。然而，如果假设 β_1 是式（13）中唯一非零的常数，那么

$$\tau = \beta_1\frac{\partial\gamma}{\partial t} = \beta_1\dot{\gamma} \quad (15)$$

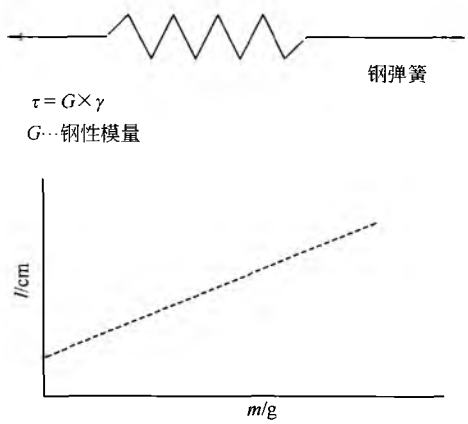


图 9 钢弹簧作为理想 Hooke 体的机械模型弹簧和长度拉长与外力成正比，此处为拉伸弹簧的重力

β_1 的值等于黏度 η 的值，因此式（15）描述了牛顿流体。牛顿流体的一个机械模型是“阻尼器”，如图 10 所示。阻尼器的伸展率取决于施于其上的应力，并且任何时候移去应力，阻尼器仍会保持其原来的伸展状态。

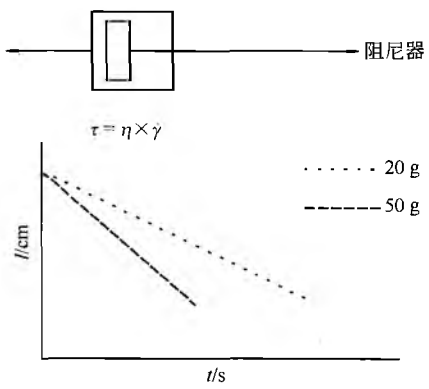


图 10 阻尼器作为理想黏性材料的机械模型阻尼器流动的程度相似，但时间段取决于外力

如果假设除了 β_0（$=G$）和 β_1（$=\eta$）之外的所有常数都为零，就得到了所谓的 Kelvin 模型：

$$\tau = G\gamma + \eta\dot{\gamma} \quad (16)$$

在机械学中 Kelvin 模型是阻尼器和弹簧并联组合的产物（图 11）。阻尼器和弹簧的伸展总是相同的，都是两个元

件的诱导张力。如果突然地一个剪切应力作用于阻尼器上，阻尼器只能缓慢而连续地做出响应。因此，弹簧的响应会被抑制，它的最大延长会被延迟。阻尼器的黏度决定了响应时间，例如，黏度越大系统的响应就越慢。当作用在系统上的应力消失后，弹簧会收缩而恢复到原来的状态。由于阻尼器的黏度，这个过程也或多或少的被延迟了。

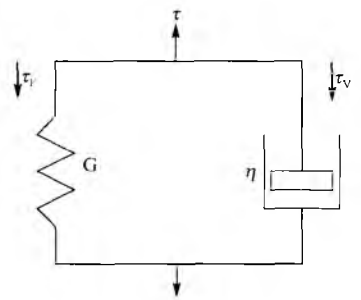


图 11 Kelvin 模型：弹簧和阻尼器并联

Kelvin 模型的应力增长的数学描述为[1]

$$\gamma = \frac{\tau}{G}(1 - e^{-t/t_k}) \tag{17}$$

式中：t 为时间；t_k 为延迟时间（$t_k = \eta/G$）。

如果式（13）中除了 α_1 和 β_1 之外的常数设为 0，就会得到以下方程：

$$\tau + \alpha_1\dot{\tau} = \beta_1\dot{\gamma} \tag{18}$$

用一个时间常数 t_M（$t_M = \eta/G$，放松时间）代替 α_1，用 η 代替 β_1 就会得到所谓的 Maxwell 模型，此模型如图 12 所示。Maxwell 模型是以不同速度响应应力的阻尼器和弹簧的串联。此模型的应力增长可描述为

$$\tau = \eta\dot{\gamma}(1 - e^{-t/t_M}) \tag{19}$$

剪切张力速率移除后应力会降低：

$$\tau = \eta\dot{\gamma}e^{-t/t_M} \tag{20}$$

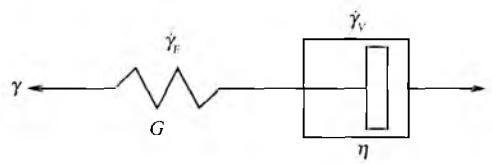


图 12 Maxwell 模型：弹簧和阻尼器串联

药剂材料很少能用像 Kelvin 模型（类固体行为）或 Maxwell 模型（类液体行为）这些简单的机械模型描述。

通常要求将有不同的特征时间常数（t_k 或 t_M）的 Kelvin 和 Maxwell 单元结合。尽管已经报道了应用 Kelvin 或 Maxwell 单元的模型[27,28]，把 Kelvin 或 Maxwell 单元结合成线形区域[29,30]在数字上是足够的。这个线形区域很容易处理，但要考虑选择每个元素的性质。如果试验者不能将元素的选择和样品结构特征样关联，这样的模型是没有价值的。合适使用线形区域的例子可以在文献中找到[31,32]。

4. 蠕变试验

实际上，黏弹性可以通过静态和动态试验测得。典型的静态试验是“蠕变试验”。一个恒定的剪切应力作用在样品上一段时间后移去，监测剪切应力随时间的变化。采用的应力水平应该足够高，可以使样品变形，但是不应该导致内部结构的任何破坏。一个典型的蠕动曲线如图 13（a）所示，综合 4 元素的机械模型可以用来解释观察到的结果。蠕变顺度代表任何时间 t 时剪切张力速率和应力的比值。

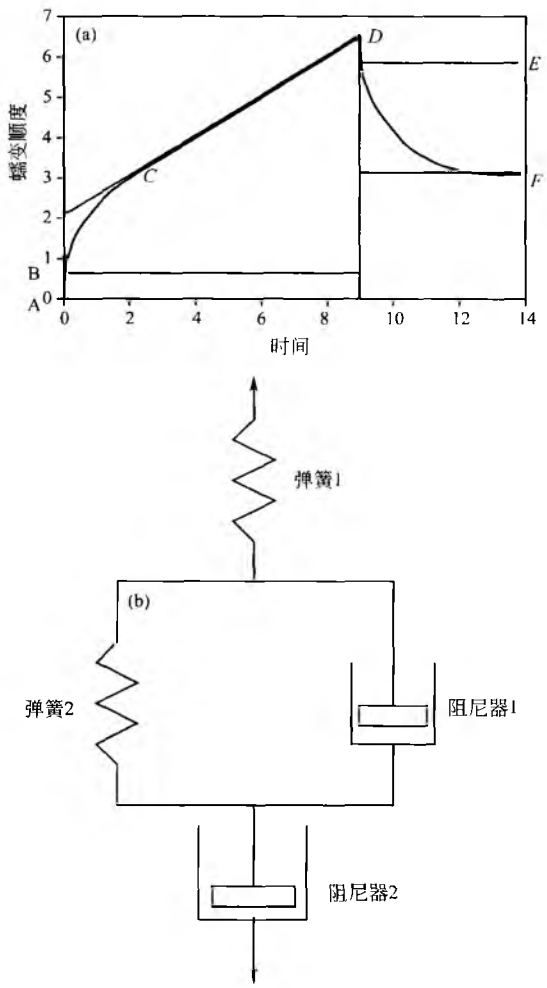


图 13 （a）典型的蠕变曲线；（b）描述典型蠕变曲线的机械模型

当应力第一次施加于样品上时，蠕变顺度立即从零增大到一个特定的值［图 13（a）$A-B$］。我们可以设想这是弹簧 1 伸展的反映［图 13（b）］。初级结构单元弹性伸展。如果应力在这一点移去，样品会完全恢复。在 B 点的蠕变顺度值称为瞬时顺度：

$$J_0 = \frac{1}{E_0} = \frac{\gamma_0(t)}{\tau} \tag{21}$$

Z

式中：E_0 为瞬时弹性模量；γ_0（t）为 $\lim_{t\to 0} t=0$ 时的瞬时应力。

如果剪切继续，结构单元之间的更多联结会被破坏或变形，但由于在更小的时间点更弱的联结会有如此表现，这个过程会有些延迟。图 13（a）中，这个阶段被称为延迟弹性区域，是时间-顺度曲线点 B 和 C 之间的部分。在机械模型中［图 13（b)］，这个区域对应的是弹簧 2 和阻尼器 1 的慢速移动，即 Kelvin 单元。延迟顺度的值可以从式（22）中得到

$$J_R = J_M(1-e^{-t/t_m}) = \frac{\gamma_R(t)}{\tau} \tag{22}$$

其中：

$$t_m = J_M\eta_M = \frac{\eta_M}{E_R} \tag{23}$$

式中：J_M 是平均顺度；γ_R（t）是延迟张力；t_m 是平均延迟时间；η_M 是延迟阶段的平均黏度；E_R 是延迟弹性。

最后，材料会像牛顿流体那样流动［图 13（a)，$C-D$］。这里，断裂的联结没有时间变形，流动曲线这部分的线性表现出了完全的黏性行为。在机械模型中，这个区域对应的是阻尼器 2 的变形［图 13（b)］。牛顿顺度可以由式（24）计算得到：

$$J_N = \frac{t}{\eta_N} = \frac{\gamma_N(t)}{\tau} \tag{24}$$

式中：η_N 是牛顿黏度；γ_N（t）是牛顿应力。

应力移去之后［图 13（a）D 点］，恢复阶段某种程度上服从蠕变顺度的镜像模式：首先，是一些瞬间的弹性恢复［图 13（a)，（b)，$D-E$；弹簧 1 返回到它的初始形状］；其次，是一个延迟弹性恢复阶段［图 13（a)，（b)，$D-E$；Kelvin 单元慢慢移动到它的初始状态］；然而，在牛顿行为阶段，单个结构单元之间的联结已经被破坏了，并且黏性变形是不可恢复的。因此，样品的一些变形仍旧保持。这个可以从机械模型中的阻尼器 2 得到反映，阻尼器 2 仍旧伸展着［图 13（b)］。

5. 振动

黏弹性行为最通常的动态试验规程是小幅振动应力的应用。这一剪切力在材料上产生相应的张力。如果材料是理想的 Hooke 体，那么剪切力和剪切张力速率的波形曲线将是同相的［图 14(a)］，而对理想的牛顿样品来说则会有一个 90°的相位移［图 14(b)］，因为对牛顿体来说，当施以最大应力时，剪切张力处于最大值。当假定剪切张力是一个正弦振动函数时，则剪切张力在曲线中间有最大值，因为在这一点由于方向的改变，剪切张力的变化速率最大。对于一个典型的黏弹性材料来说，相位移的值为 0°～90°［图 14（c)］。

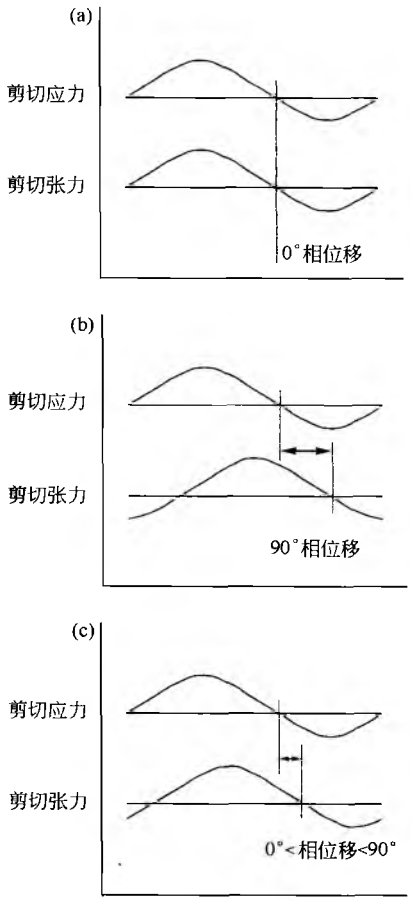


图 14 振动剪切应力及产生的剪切张力：(a) Hooke 体；(b) 牛顿体；(c) 黏弹性材料

当给予一剪切应力：

$$\tau = \tau_0\cos\omega t \tag{25}$$

则产生一剪切张力：

$$\gamma = \gamma_0\cos(\omega - \delta t) \tag{26}$$

式中：τ_0 和 γ_0 分别代表应力和张力幅度；ω 代表振动频率；δ 代表滞后相位移（相角，损失角），即对振动张力滞后于振动应力的量化。δ 的值和振幅比值 τ_0/γ_0 取决于材料本身。在线性黏弹性范围内，这些是材料的性质，虽然两者都随所用频率而改变。

式（26）可以改写为

$$\gamma = \gamma_0\cos\delta\cos\omega t + \gamma_0\sin\delta\sin\omega t \tag{27}$$

式中：$\gamma_0\cos\delta$ 代表与应力同相的张力分量的振幅，而 $\gamma_0\sin\delta$ 则定量了相位相差 90°的张力分量的振幅[10]。从这些术语中，可以通过应力振幅的归一化对累积顺应（J'）和损失顺应（J''）进行定义：

$$J' = \frac{\gamma_0\cos\delta}{\tau_0} \tag{28}$$

$$J'' = \frac{\gamma_0\sin\delta}{\tau_0} \tag{29}$$

式（27）可简化为

$$\gamma = \tau_0(J'\cos\omega t + J'\sin\omega t) \tag{30}$$

对于 $\delta=0°$的理想 Hooke 体，其损失顺应为零，而 J'与累积在材料内部的弹性能量相关。材料没有能量损失。类似地，$\delta=90°$的牛顿体，其累积顺应为零。这里，J''的值与能量耗散的速率相关。在黏弹性材料中，J' 和 J'' 的值不等于零，它们的相对比例可以用式（31）计算：

$$\tan\delta = \frac{J''}{J'} \tag{31}$$

当对外加的张力而不是应力进行控制时，假定 $\tau=\tau_0\cos(\omega t+\delta)$ 和 $\gamma=\gamma_0\cos\omega t$，代替式（25）和式（26），可以用一个类似的分析推导出累积模量 G'和损失模量 G''。这个分析表明：

$$\tau = \gamma_0(G'\cos\omega t - G''\sin\omega t) = G'\gamma + \frac{G''}{\omega}\dot{\gamma} \tag{32}$$

式中：$G'=\frac{\tau_0\cos\delta}{\gamma_0}$；$G''=\frac{\tau_0\sin\delta}{\gamma_0}$。如果材料表现出完全弹性或有高度结构如凝胶，累积模量 G'再次描述了材料的弹性，其值为 1。如果 $G'=0$，则材料表现出完全的黏性且没有内在结构（如溶胶）。损失模量涉及的是材料的黏性，并量化了黏性流动引起的能量耗散程度。如果材料表现出 Hooke 体的特征，$G''=0$。如前所述，给定频率下的黏性和弹性行为间的比例可以用 $\tan\delta=\frac{G''}{G'}$来描述。

J'、J''、G'和 G''之间量的关系如下[10]：

$$\tan\delta = \frac{J''}{J'} = \frac{G''}{G'} \tag{33}$$

$$J' = \frac{G'}{G'^2+G''^2} \tag{34}$$

$$J'' = \frac{G''}{G'^2+G''^2} \tag{35}$$

$$G' = \frac{J'}{J'^2+J''^2} \tag{36}$$

$$G'' = \frac{J''}{J'^2+J''^2} \tag{37}$$

最后，我们可以考虑用张力率幅度（$\dot{\gamma}_0$）来代替应力或张力，可得

$$\tau = \dot{\gamma}_0(-\eta'\sin\omega t + \eta''\cos\omega t) \tag{38}$$

式中：$\eta'=\frac{\tau_0\sin\delta}{\gamma}$称为动态黏度，而 $\eta''=\frac{\tau_0\cos\delta}{\dot{\gamma}_0}$是一个未命名的参数，与累积模量的关系如下[1]：

$$G' = \eta''\omega \tag{39}$$

相应地，损失模量与动态黏度相关，即：

$$G'' = \eta'\omega \tag{40}$$

通常报告任意一对数据与频率的关系图，频率为 1000～0.001Hz[1]。测出的参数变化可用于描述材料的黏弹性。

流变学测量技术

1. 流变仪的分类

从一系列供应商处可以购买到许多种流变仪，Whorlow[10]将它们分为“稳定的旋转仪器”和“管状和缝状的流变仪”。Walters[33]详细的叙述了流变仪的设计原理，Ferry[34]总结了测定黏弹性质的一些仪器技术。Sherman[35]则分析了工业中的具体要求和技术。

2. 物理原理

要得到精确和重复性好的结果的主要要求是在测试的时候样品必须经历层流。当以管状黏度计测定时，其层流流速呈现改变的抛物线。对于牛顿流体，剪切力和剪切速率在接近测试管的边缘达到最大值，在中心接近零。剪切薄的样品显示截平的流动模型，随着幂指数下降的增加有“栓塞流”的倾向[1]。在旋转流变仪中的层流是样品围绕仪器的旋转轴作同心运动而产生。

对层流的偏离，主要是因为惯性和（或）黏弹性[11]，从而导致紊流，即产生明显偏离流动方向的不平稳流动模式。极端时样品可以产生局部旋转，称为“泰勒涡”，主要见于同心圆筒仪器，该仪器中内部圆柱旋转[10]，如“杯锤流变计”。

雷诺数 Re 是描述惯性力与黏力的比率的常数，可以确定流体在管中是层流还是湍流的：

$$Re = \frac{\rho d v}{\eta} \tag{41}$$

式中：ρ 是样品的密度；d 是管的直径；v 是平均流速；η 是样品的动态黏度。对于旋转黏度计，雷诺数将圆柱体、圆锥体或平板半径与样品的物理性质以及流体速度联系起来，这些等式对于不同的设备有不同的值，要参考特定的文献。

其他可能会影响到结果的误差如管壁效应（“渐渐松弛”）、热量的发散、由于剪切而导致温度的增加。在管中，管壁流体的黏性要小于中央。这是由于剪切力和管壁摩擦力的产生，可以选择最佳管直径将其最小化。大多数情况下，管直径的增加会减少管壁的影响，但是对于低黏性的牛顿流体，管直径太大会导致湍流[10]。当以管状流变器测量混悬剂时，狭窄的管径会导致粒径分布不均以及堵塞。因为温度会影响黏度，散出的热量必须马上移去，必须阻止由于剪切力引起的温度增加。这是流变计的主要结构问题。从技术上来说，这种问题对于管状流变器来说比旋转仪器更易控制，尤其要好于同心圆柱流变仪[1]。

3. 稳定的旋转仪器

3.1 同心筒流变仪

杯锤流变计简单构造示意图见图 15。驱动杆以一定的速率旋转。如果两个同心圆柱体之间没有摩擦力，弹簧将会完全控制旋转。而填充于两同心圆之间的被测样品是黏性的会抵制旋转。结果弹簧不能跟着驱动轴旋转而扭曲。这样就会产生扭力矩，扭力矩与剪切力成一定的比例。

Z

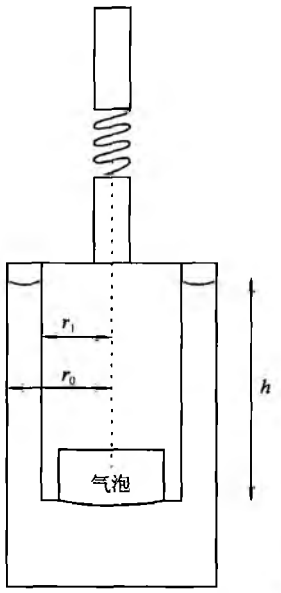


图 15 杯锤流变计。r_1 为内筒的半径；r_0 为外筒的半径；h 为内筒浸入液体中的深度

对于内外圆柱体之间有狭小缝隙的设备，即内半径 r_1 与外半径 r_0 的比率小于 0.97，剪切应变速率为

$$\dot{\gamma} = \frac{r_0 \omega}{r_0 - r_1} \tag{42}$$

式中：ω 是内转筒的角速度。剪切力取决于力偶 C 和内转筒的浸入长度（图 15）：

$$\tau = \frac{C}{2\pi r_0^2 h} \tag{43}$$

结合式（42）和（43）可以得出黏度

$$\eta = \frac{C(r_0 - r_1)}{2\pi r_0^3 \omega h} \tag{44}$$

内外圆柱体的排列必须完全平行，对于大粒径的混悬液，内外圆柱体之间的狭小缝隙也是存在问题的[1]。因此商业设备通常提供有较大缝隙的备件。而缝隙间的剪切率梯度需要进行校正，在接近圆柱体壁的地方，剪切力要大，剪切率也相应的变化。对于这样的备件，Krieger 和 Mason 提供了内圆柱体剪切率、剪切力和黏度的公式

$$\dot{\gamma} = \frac{2\omega}{n[1 - (r_1/r_0)^{2/n}]} \tag{45}$$

$$\tau = \frac{C}{2\pi r_1^2 h} \tag{46}$$

$$\eta = \frac{Cn[1 - (r_1/r_0)^{2/n}]}{4\pi r_1^2 h\omega} \tag{47}$$

式中：n 是幂指数，能够通过 $C = f(\omega)$ 的双对数图确定。

边界效应会导致剪切力产生正偏差，减少这种误差的一种方法是在内部圆柱体的下端采用空气泡（图 15）。尽管这种方法用得很多，但是不能完全消除摩擦边界效应[37]，因此必须进行校正。按式（44），用已知牛顿流体的黏度来计算样品的理论角速度。实验和理论角速度的差别可以作为黏度的函数，得到一条直线，从而得到校正因子。

3.2 平行盘系统

平行盘系统由一个固定盘和一个旋转盘构成，样品在两者之间（图 16）。围住的样品体积为

$$V = \pi R_{pp}^2 H \tag{48}$$

式中：R_{pp} 是平行盘的半径；H 是缝隙高度（图 16）。

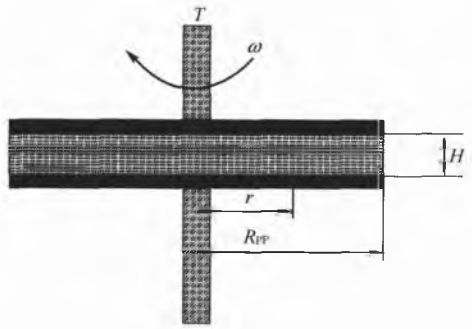


图 16 平行盘系统 r 为盘中一点到中心的距离；R_{pp} 为盘的半径；H 为盘间的距离；T 为产生的扭力，ω 为转盘的角速度

在给定半径 r 下剪切应变速率为

$$\dot{\gamma} = \frac{\omega r}{H} \tag{49}$$

$$\tau_{max} = \frac{2C}{\pi R_{pp}^2}\left(\frac{3}{4} + 0.25\,\frac{\ln C}{\ln \dot{\gamma}_{max}}\right) \tag{50}$$

样品在盘外周的黏度用式（51）计算[33]：

$$\eta = \frac{3CH}{2\pi R_{pp}^4 \omega}\left(1 + \frac{1}{3}\,\frac{d\ln C}{d\ln \omega}\right) \tag{51}$$

然而，平行盘式流变仪不推荐用于黏度的测定，因为剪切应变速率在板间隙的差异比同心筒系统大[10]，但在振荡研究中还是具有一些优势[1]。

3.3 锥和平板黏度计

图 17 是锥板黏度计，板静止，而锥旋转，或相反。锥和板面夹角小于 5°。如果角度更大，对于非牛顿流体的结果分析就会更加复杂甚至不可能。如果角度更小，更有利于样品排出，温度也易于控制[10]。

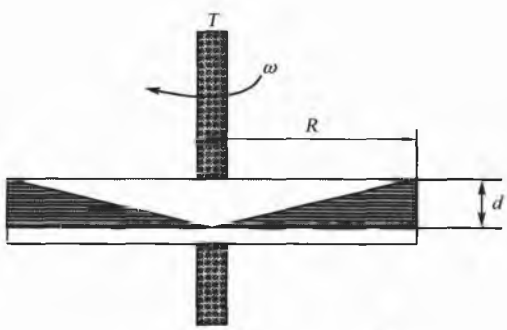


图 17 锥板黏度计。R 为锥板的半径；d 为外周锥板的间隙；ω 为转锥的角速度；T 为产生的扭力

在足够小的缝隙中，缝隙中每一点的剪切应变速率是一常数，样品体积小，结果重现性高。然而，锥底端和板接触即可，不能有作用力。如果底端和板间有缝隙，就会有不正确的剪切应变速率。为了避免锥底端和板中点的损坏，底端应该截短，然而截短的底端和板之间的间隙仍需精确调整。底端截短有利于样品更均匀的分布在缝隙内，特有的板角度设计阻止了离心力造成的混悬液中样品和粒子的运动和样品的排出。

锥板缝隙中任何一点 r 的剪切应变速率由式（52）计算

$$\dot{\gamma} = \frac{\omega r}{\mathrm{d}(r)} = \frac{\omega}{\tan\theta} \tag{52}$$

式中：$\mathrm{d}(r)$ 是某点 r 板和锥表面间距，当 $\mathrm{d}(r) = d$ 时，$r = R$。

剪切应力由式（53）得出

$$\tau = \frac{3C}{2\pi R^3} \tag{53}$$

式中：R 是锥半径。样品的黏度由式（54）计算：

$$\eta = \frac{3C\tan\theta}{2\pi R^3 \omega} \tag{54}$$

如果截断锥半径小于 $0.2R$，上述方程式在误差小于1%的范围内都适用[10]。

4. 管和缝隙流变仪

4.1 静压头黏度计（毛细管黏度计）

静压头黏度计是毛细管黏度计，流体静压头为待测物质通过毛细管提供驱动压力。通常这种黏度计用于测量牛顿流体或者类牛顿流体。最简单的静压头黏度计是Ostwald公司的U型管。由毛细管连接两个相同半径的小泡构成。更先进的装置是Ubbelohde公司的悬挂水平黏度计。这种黏度计在毛细管下方增加一个小泡，使整个毛细管内的压力相同。将两种黏度计填充样品，置于水浴中，在给定的温度下平衡设备和待测物。样品流过毛细管的时间和样品的动力学黏度成正比，由此可测得样品黏度。

Ostwald黏度计毛细管内的压力梯度遵循 Hagen-Poiseuille定律：

$$\frac{\mathrm{d}P}{\mathrm{d}l} = \frac{8(\mathrm{d}V/\mathrm{d}t)\eta}{\pi r^4} \tag{55}$$

式中：$\mathrm{d}V/\mathrm{d}t$ 是体积流速率，即给定时间段内通过毛细管的液体体积；r 是毛细管半径。毛细管壁上液体剪切力 τ 为 $(r/2)(\mathrm{d}P/\mathrm{d}l)$，毛细管中心剪切力为0，$\tau$ 在此区间内变化，而剪切应变速率在 $4(\mathrm{d}V/\mathrm{d}t)/(\pi r^3)$ 和0之间变化[1]。

采取特别的改进措施使毛细管黏度计应用于非牛顿流体[1,10]，然而，前提条件是所测样品不表现任何触变性或者逆触变性。

4.2 缝隙黏度计

在给定压力梯度下在两块平行的静止板间的流动称为缝隙流，可认为是毛细管流体的二维类似物。在研究实际工业过程时用到这一技术，如塑料的注射成模工艺。剪切应力由式（56）计算：

$$\tau = \frac{h\mathrm{d}P}{2\mathrm{d}l} \tag{56}$$

式中：h 是板高，剪切应变速率由式（57）计算[1]：

$$\dot{\gamma} = \frac{2(\mathrm{d}V/\mathrm{d}l)}{bh^2}\left[2 + \frac{d\ln(\mathrm{d}V/\mathrm{d}l)}{\mathrm{d}\ln\tau}\right] \tag{57}$$

式中：b 是板宽。

4.3 落球黏度计

落球黏度计的管子更宽，装有待测样品，通过测量已知大小和密度的小球通过待测样品的时间来测定类牛顿流体的黏度。阻碍小球（w）下降的液体阻力由式（58）计算：

$$w = 6\pi r\eta v \tag{58}$$

小球所受重力（F_B）为

$$F_B = \frac{4}{3}\pi r^3(\rho_B - \rho_N)g \tag{59}$$

在平衡状态下，即小球悬浮在液体中不下降时，式（58）和（59）相等（$w = F_B$；$v = 0$）。在式（58）和（59）中，r 为小球半径，v 是小球下降的速度，ρ_B 和 ρ_N 分别为小球和牛顿流体样品的密度，g 是重力加速度常数（9.81 $\mathrm{m/s^2}$）。联立两式可由式（60）计算样品的动力学黏度：

$$\eta = \frac{2r^3(\rho_B - \rho_N)g}{9v} \tag{60}$$

小球下降的速度可通过测量小球通过给定距离的时间计算得到。

液体中下降的球可引起液体的涡流，因此下降速度应尽可能低。上述方程假定测量管直径无限大。然而，由于实际情况并非如此，式（60）计算得到的黏度需要通过式（61）校正壁效应：

$$\eta_{corr} = \eta\left(1 - 2.104\frac{d}{D} + 2.09\frac{d^3}{D^3}\right) \tag{61}$$

式中：d 为落球的直径；D 是管内径；Höppler 落球黏度计采用非竖直管减小壁效应和涡流。

5. 黏弹性测量

蠕变试验可通过稳态旋转黏度计测量。传统的强制震动测试可通过普通剪切仪测试进行，如旋转流变仪中的板-板和板-锥系统。

波的传播[10,34,36]包括样品表面波形的产生和这些波通过样品时速度和衰减作用的评价。“稳态流速流变仪”[37]产生样品流以便装置中给定点的流速在实验过程中不发生变化。然而，由于装置中不同点的流速不同，样品单个流动元素受到振荡剪切作用。在Maxwell正交流变仪中，这通过板－板几何构造实现。其中一个板以给定角速度旋转，另一个板自由旋转，其角速度接近定另一块板[33]。

Z

药剂系统流变学

1. 液体和半固体制剂

有关半固体制剂如乳剂和霜剂的流变学研究不是近年来的研究热点。药典将黏度测定作为牛顿流体的质量控制标准之一。药典对于非牛顿流体半固体剂型的测试更少关注流变学性质，有些药典用渗透计法代替真正的流变学测量（如 DAB 10）。欧洲药典各论介绍了稳态旋转仪器的使用，但是并没有提供其定性或分类样品的详细方法。如果考虑到从 20 世纪 60～70 年代大量有关乳剂基质如软白石蜡[38~44]、羊毛脂[45,46]和其他基质[43,45,47]的流变学测量的文献，可以检测并解释这些材料不同批次、来源的差异，那么简单的渗透计法和没有明确使用流变学计的测量方法就不合理了。流变学研究和其他现代分析方法[48~50]，如低频电介质光谱法和热分析法表明，这些材料在生产过程中出现的问题并没有解决。凝胶由于其胶态－溶液态转变性质，成为半固体剂型重要的基质，Gallegos 和 Franco 详尽综述了其流变学研究[51]。

2. 混悬剂

混悬剂是固体颗粒混悬在液体中，固体物质在混悬剂总体积中占有一定份额。这一份额称为相体积 ϕ。混悬剂的流变学测量基于固体物在液体基质中的体积分数，因为流变学行为主要基于液体动力，液体动力在颗粒或颗粒表面起作用，与颗粒密度无关。

对于球形颗粒在牛顿流体中的稀混悬剂（相体积小于或等于 10%），可用 Einstein 方程[52,53]预测混悬剂的黏度 η，其黏度与牛顿流体类似：

$$\eta = \eta_L(1 + 2.5\phi) \qquad (62)$$

式中：η_L 是混悬液体的黏度。式（62）并没有考虑粒子间相互作用力、粒径或粒子形状的影响。

当固体颗粒可以在样品中形成连续的三维立体网状结构时，任何浓混悬剂就不会流动了。这也称为最大压实摩擦力 ϕ_m，取决于粒径分布[54]和粒子形状[55]。粒径分布越宽，ϕ_m 值越低，因为小粒径的粒子可以填入大粒径之间的空隙，由于静态堆积阻力，颗粒形状偏离球形会导致更低的 ϕ_m[56]。波动可以引起 ϕ_m 降低，因为单个絮状物只是松散地排列。

浓混悬剂也表现牛顿流体行为，但是更常见的是表现剪切变稀或剪切变稠的行为。

对牛顿流体，浓混悬剂的黏度可以通过 Krieger－Dougherty 方程计算[57]：

$$\eta = \eta_L\left(1 - \frac{\phi}{\phi_m}\right)^{-\eta\phi_m} \qquad (63)$$

浓混悬剂的剪切变稀对于分散在低黏度牛顿流体中的亚微粒是常见的[58]。在低剪切应变速率下，布朗运动使颗粒在混悬剂中随机分布，颗粒胶体溶液表现黏性。然而，在高剪切应变速率下，颗粒排列成层，可在液体流动方向相互滑动，就使得整个体系黏度降低，剪切变稀的原理一致。如果静电排斥力抑制布朗运动，剪切变稀混悬液中的粒子就会形成三维晶状结构，流动性降低，表现出显著的屈服应力[59]。

高剪切应变速率总会引起剪切变稠，这主要是由于之前提到的粒子层分解[58]，或者由于粒子间液膜破损导致颗粒间直接接触[1]。后者对于 $\phi \geqslant 0.5$ 的混悬剂更典型。

糊剂是高浓度混悬剂，其流变学性质对于小丸的挤出和滚圆工艺很重要。J. M. Newton 在本书中对这一主题作了详细介绍。

3. 乳剂、微乳和液晶

乳剂，微乳和液晶是变形颗粒的混悬剂，之前提到的许多适用于混悬剂的规则同样适用。然而，相体积的影响较小[1]。

乳剂是渐变的非牛顿流体，即随着疏水相浓度的增加剪切变稀。与固体颗粒混悬剂相比较，乳剂中乳滴粒径、形状及分布的影响研究较少，但是总体而言，粒径更小，粒径分布更均匀的乳滴黏度更大。因此，能量输入的增加，如匀浆化，会导致黏度增加。

微乳的黏度已经经过多次研究，以确定水化和分散液滴间的作用[60~64]。研究发现，表面活性剂分子水化的增加，使微乳流变学行为与低浓度固体颗粒混悬剂的流变学行为相似。在任何情况下，微乳都表现出牛顿流体的特性。

液态晶体可以分为溶致和热致系统。向热液晶的流变学文献很少，但一般向列液晶显示牛顿流体的行为，碟状液晶和胆甾相液晶显示或多或少的栓塞流[65]。栓塞流是非牛顿流体和剪切变稀液体的典型特性。

溶致晶体的行为通常是属非牛顿流体[66]。片状液晶显示触变性或逆触变性[67]，但是剪切变稀/触变性是更常见的[68~71]。剪切变稀效应归因于液晶域的定向和特定结构的分解。也观察到黏弹性[72,73]。然而，如果表面活性剂分子浓度很低并接近于临界浓度，将能观察到牛顿流体[73]。

六边形液晶系统的流动性与在流动方向沿着长轴排列的棒状聚集物有关[74]。剪切变稀的流动过程可能伴随表观屈服应力[75]。该系统的黏弹性也有报道[76]。

立方体液晶可以描述为澄明坚硬凝胶[77]。因而，这些液晶在表观屈服应力被克服后，表现为剪切变稀。黏弹性也是凝胶的典型特征：发现其有一个宽的线性黏弹性范围，和与频率无关的并比黏性成分高很多的弹性成分[78,79]。

4. 薄膜包衣

流变学技术如蠕变试验或震动能用于薄膜包衣，以评价它们的黏弹性。然而，试验通常测定张力，而不是剪切力。聚合物包衣的蠕变时间曲线通常分成三部分[80]。在一个起始瞬间应力之后，聚合物包衣通常会有一时短暂的应力的反应。张力拉伸的速率随时间下降，并达到最小稳态值。在第三个阶段，蠕变速率又增加了，随即导致包衣层

的最后破裂。然而，在通常试验中，恢复期开始，而张力的拉伸速率始终在稳定状态的区域。在暂态张力拉伸的速率的降低与薄膜亚结构的改变有关。这些改变引起在抵抗错位移动的整体增加。然而，在稳态蠕变阶段，恒定的张力拉伸速率预示了包衣结构已经稳定，并在变形硬化和软化过程中有一个动态的平衡。获得的聚合物包衣的蠕变曲线可能没有暂态或稳态阶段。在前一例子中，蠕变曲线自始自终呈一直线，而后例中则相反，暂态部分的蠕变曲线是以平行于时间轴的线性结束。如果蠕变时间曲线是一直线，稳态流动将产生永久变形，反之仅发生在暂态阶段必会引起完全恢复。

表面流变学

测定溶液表面或溶液和生物薄膜界面的表面流变学特征称为表面或界面流变学。在这个技术中，也进行在张力、压缩或剪切力方面的实验，也能观察到在整体流变学如流动和黏弹性的现象。Warburton 对可用的该技术的简介和一些关键的发现进行了讨论[81,82]。

参 考 文 献

1. Barnes, H. A.; Hutton, J. F.; Walters, K. An Introduction to Rheology; Elsevier: Amsterdam, 1989.
2. Marriott, C.; Shih, C. K.; Litt, M. Changes in the gel properties of tracheal mucus induced by divalent cations. Biorheology 1979, 16, 331－337.
3. Martin, G. P.; Loveday, B. E.; Marriott, C. The effect of bromhexin hydrochloride on the viscoelastic properties of mucus from the mini-pig. Eur. Respir. J. 1990, 3, 392－396.
4. Barnes, D. M. W.; Warburton, B. The effect of pH upon the surface film characteristics of whole saliva. J. Pharm. Pharmacol. 1988, 40, 35P.
5. Dormandy, J. A. Influence of blood viscosity on blood flow and the effect of low molecular weight dextran Br. Med. J. 1971, 4, 716－719.
6. Dormandy, J. A. Hyperviscosity angina. Lancet 1975, 1, 679－680.
7. Barnes, A. J.; Locke, P.; Scudder, P. R.; Dormandy, T. L.; Dormandy, J. A.; Slack, J. Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease? Lancet 1977, 2, 789－791.
8. Chawla, B. S. Thixotropy and rheopexy of propyliodone suspensions in arachis oil: Effect of median particle size. J. Pharm. Pharmacol. 1968, 20, 168S－175S.
9. Schlichting, H. T. Boundary Layer Theory; 7th Ed., (translated by Kestin, J.) McGraw-Hill: New York, 1979.
10. Whorlow, R. W. Rheological Techniques; 2nd Ed. Ellis Horwood: New York, 1992.
11. Giesekus, H. Sekundärströmung in viskoelastischen Flüssigkeiten bei stationärer und periodischer Bewegung. Rheol. Acta 1965, 4, 85－101.
12. Timoshenko, S. P.; Goodier, J. N. Theory of Elasticity, 3rd Ed. McGraw-Hill: New York, 1987.
13. Cross, M. M. Rheology of non-Newtonian fluids: A new flow equation for pseudo-plastic systems. J. Colloid Sci. 1965, 20, 417－437.
14. Boger, D. V. Demonstration of upper and lower Newtonian fluid behaviour in a pseudo-plastic fluid. Nature 1977, 265, 126－128.
15. Whitcomb, P. J.; Macosko, C. W. Rheology of xanthan gum. J. Rheol. 1978, 22, 493－505.
16. Carreau, P. J. Rheological equations from molecular network theories. Trans. Soc. Rheol. 1972, 16, 99－127.
17. Sisko, A. W. The flow of lubricating greases. Ind. Eng. Chem. 1958, 50, 1789－1792.
18. De Kee, D.; Turcotte, G.; Code, R. K. Rheological Characterisation of Time-Dependent Foodstuffs. In Rheology Volume 3: Applications; Astarita, G., Marrucci, G., Nicolais, L. Eds.; Plenum Press: New York, 1980; 609－614.
19. Onogi, S.; Asada, T. Rheology and Rheo-Optics of Polymer Liquid Crystals. In Rheology Volume 1: Principles; Astarita, G., Marrucci, G., Nicolais, L. Eds.; Plenum Press: New York, 1980; 127－147.
20. Beazley, K. M. Industrial Aqueous Suspensions. In Rheometry: Industrial Applications; Walters, K., Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1980; 339－413.
21. Hoffman, R. L. Discontinuous behaviour in concentrated suspensions. Trans. Soc. Rheol. 1972, 16, 155－173.
22. Barnes, H. A.; Walters, K. The yield stress myth? Rheol. Acta 1985, 24, 323－326.
23. Ippolito, M. Rheology of Disperse Systems-Influence of NaCl on the Viscous Properties of Aqueous Bentonite Suspensions. In Rheology Volume 2: Fluids; Astarita, G., Marrucci, G., Nicolais, L., Eds.; Plenum Press: New York, 1980; 615－658.
24. Casson, N. Flocculated Particles. In Rheology of Disperse Systems; Mill, C. C., Ed.; Pergamon Press: London, 1959; 84－104.
25. Voigt, R.; Bornschein, M. Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie; Verlag Volk und Gesundheit: Berlin, 1987.
26. Von Herschel, W. H.; Bulkley, R. Konsistenzmessungen von Gummi-Benzollösungen. Kolloid-Z. 1926, 39, 291－300.
27. Frohlich, H.; Sack, R. Theory of the rheological prop-

erties of dispersions. Proc. Roy. Soc. London 1946, A185, 415—430.

28. Oldroyd, J. G. The elastic and viscous properties of emulsions and suspensions. Proc. Roy. Soc. London 1952, A218, 122—132.
29. Alfrey, T. Methods of representing the properties of viscoelastic materials. Quart. Appl. Math. 1945, 3, 143—150.
30. Roscoe, R. Mechanical models for the representation of viscoelastic properties. Br. J. Appl. Phys. 1950, 1, 171—173.
31. Shama, F.; Sherman, P. Rheology of pharmaceutical and cosmetic semisolids. J. Food Sci. 1966, 31, 699—706.
32. Barry, B. W. Rheology of pharmaceutical and cosmetic semisolids Adv. Pharm. Sci. 1974, 4, 1—72.
33. Walters, K. Rheometry; Chapman & Hall: London, 1975.
34. Ferry, J. D. Viscoelastic Properties of Polymers; John Wiley & Sons: Chichester, 1980.
35. Sherman, P. Industrial Rheology; Academic Press: London, 1974.
36. Harrison, G. The Dynamic Properties of Supercooled Liquids; Academic Press: London, 1976.
37. Maxwell, B.; Chartoff, R. P. A polymer melt in an orthogonal rheometer. Trans. Soc. Rheol. 1965, 9, 41—52.
38. Schulte, K. E.; Kassem, M. A. Rheologische Studien an Salbengelen. Pharm. Acta Helv. 1963, 38, 358—370.
39. Birdwell, B. F.; Jessen, F. W. Crystallisation of petroleum waxes. Nature 1966, 209, 366—368.
40. Davis, S. S.; Shotton, E.; Warburton, B. Some limitations of continuous shear methods for the study of pharmaceutical semi-solids. J. Pharm. Pharmacol. 1968, 20, 157S—167S.
41. Longworth, A. R.; French, J. D. Quality control of white soft paraffin. J. Pharm. Pharmacol. 1969, 21, 1S—5S.
42. Barry, B. W.; Grace, A. J. Grade variation in the rheology of white soft paraffin BP. J. Pharm. Pharmacol. 1970, 22, 147S—156S.
43. Barry, B. W.; Grace, A. J. Investigation of semisolid lipophilic preparations by small strain and continuous shear viscometry and their application to texture profile. J. Pharm. Sci. 1971, 60, 814—820.
44. Barry, B. W.; Grace, A. J. Rheological and sensory evaluation of work softening and recovery of pharmaceutical white soft paraffins. J. Pharm. Sci. 1971, 60, 1198—1203.
45. Boylan, J. C. Rheological study of selected pharmaceutical semisolids. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 710—715.
46. Boylan, J. C. Rheological estimation of the spreading characteristics of pharmaceutical semisolids. J. Pharm. Sci. 1967, 56, 1164—1169.
47. Davis, S. S. Viscoelastic properties of pharmaceutical semisolids. I: Ointment bases. J. Pharm. Sci. 1969, 58, 412—417.
48. Fu, C.-C.; Lidgate, D. M. Characterisation of the shear sensitivity property of petrolatum. J. Pharm. Sci. 1985, 74, 290—294.
49. Pena, L. E.; Lee, B. L.; Stearns, J. F. Structural rheology of a model ointment. Pharm. Res. 1994, 11, 875—881.
50. Goggin, P. L.; He, R.; Craig, D. Q. M.; Gregory, D. P. An investigation into the use of low-frequency dielectric spectroscopy as a means of characterising the structure of creams based on aqueous cream BP. J. Pharm. Sci. 1998, 87, 559—563.
51. Gallegos, C.; Franco, J. M. Rheology of food, cosmetics and pharmaceuticals. Curr. Opin. Colloid Inter. Sci. 1999, 4, 288—293.
52. Einstein, A. Eine neue Bestimmung der Moleküldimension. Ann. Phys. 1906, 19, 289—306.
53. Einstein, A. Berichtigung zu meiner Arbeit: Eine neue Bestimmung der Moleküldimension. Ann. Phys. 1911, 34, 591—592.
54. Liu, D.-M. Particle packing and rheological property of highly-concentrated ceramic suspensions: ϕ_m determination and viscosity prediction. J. Mater. Sci. 2000, 35, 5503—5507.
55. Turian, R.; Yuan, T.-F. Flow of slurries in pipelines. AIChE J. 1977, 23, 232—243.
56. Wakeman, R. Packing densities of particles with log-normal size distribution. Powder Technol. 1975, 11, 297—299.
57. Krieger, I. M.; Dougherty, T. J. A mechanism for non-Newtonian flow in suspensions of rigid spheres. Trans. Soc. Rheol. 1959, 3, 137—152.
58. Hoffman, R. L. Interrelationships of particle structure and flow in concentrated suspensions. MRS Bull. 1991, 16, 32—37.
59. Hiltner, P. A.; Papir, Y. S.; Krieger, I. M. Diffraction of light by nonaqueous ordered suspensions. J. Phys. Chem. 1971, 75, 1881—1886.
60. Attwood, D.; Currie, L. R. J.; Elworthy, P. H. Studies of solubilised micellar solutions: 3. The viscosity of solutions formed with nonionic surfactants. J. Colloid Interf. Sci. 1974, 46, 261—265.

61. Baker, R. C.; Florence, A. T.; Ottewill, R. H.; Tadros, T. F. Investigations into the formation and characterisation of microemulsions: 2. Light scattering, conductivity and viscosity studies of microemulsions. J. Colloid Interf. Sci. 1984, 100, 332—349.
62. Peyrelasse, J.; Moha-Ouchane, M.; Boned, C. Viscosity and the phenomenon of percolation in microemulsions. Phys. Rev. A 1988, 38, 4155—4161.
63. Ktistis, G. A viscosity study on oil-in-water microemulsions. Int. J. Pharm. 1990, 61, 213—218.
64. Kahlweit, M.; Strey, R.; Hasse, D.; Kunieda, H.; Schmeling, T.; Faulhaber, B.; Borkovec, M.; Eicke, H. F.; Busse, G.; Eggers, F.; Funck, T. H.; Richmann, H.; Magid, L.; Soderman, O.; Stills, P.; Winkler, J.; Dittrich, A.; Jahn, W. How to study microemulsions. J. Colloid Interf. Sci. 1987, 118, 436—453.
65. Brown, G. H.; Doane, J. W.; Neff, V. D. A Review of the Structure and Physical Properties of Liquid Crystals; Butterworth: London, 1971.
66. Israelachvili, J. The science and applications of emulsions—An overview. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 1994, 91, 1—8.
67. Solyom, P.; Ekwall, P. Studien über die rheologischen Eigenschaften der Mesophasen in Natriumkaprylat-Dekanol-Wasser Systemen. Rheol. Acta 1969, 8, 316—327.
68. Pohlin, L.; Fontell, K. Flow properties of lamellar liquid crystalline lipid-water systems. J. Colloid Interf. Sci. 1978, 67, 272—283.
69. Hirsch, E.; Wittmann, J. C.; Candan, F. Structure and viscometric behaviour of gel phases in quaternary systems containing anionic surfactants. J. Dispers. Sci. Technol. 1982, 3, 351—372.
70. Gallegos, C.; Nieto, M.; Nieto, C.; Muñoz, J. Influence of surfactant concentration on the time dependant rheological behaviour of the lamellar liquid crystals. Proc. Colloid Polym. Sci. 1991, 84, 236—240.
71. Franco, J. M.; Muñoz, J.; Gallegos, C. Transient and steady flow of a lamellar liquid crystalline surfactant/water system. Langmuir 1995, 11, 669—673.
72. Tamamushi, T.; Kodaira, Y.; Matsumura, M. A comparative study of the thermotropic and lyotropic mesophases formed by ammonium dodecanoate. Colloid Polym. Sci. 1976, 254, 571—576.
73. Teipel, U.; Heymann, L.; Aksel, N. Rheologische Eigenschaften von wässrigen nicht-ionischen Tensidlösungen in oszillatorischer Scherströmung. Chem.-Ing.-Tech. 2000, 72, 349—355.
74. Groves, M. J.; Ahmad, A. B. Some rheological properties of lyotropic liquid crystals formed by phosphated polyoxyethylene surfactants, n-hexane and water. Rheol. Acta 1976, 15, 501—507.
75. Muñoz, J.; Alfaro, M. C. Rheological and phase behaviour of amphiphilic lipids. Grasas y Aceites. [Int. J. Fats Oils] 2000, 51, 6—25.
76. Gallegos, C.; Muñoz, J.; Rodriguez, J. M.; Flores, V. Rheology of Lyotropic Liquid Crystals for Binary Polyoxyethylene Fatty Alcohol/Water Systems. II. The Hexagonal Mesophase. In Process and Trends in Rheology II; Giesekus, H., Hibberd, M. F., Eds.; Steinkopf Verlag: Berlin, 1988; 282—284.
77. Ekwall, P. Composition, Properties and Structures of Liquid Crystalline Phases in Systems of Amphiphilic Compounds. In Advances in Liquid Crystals 1; Brown, G. H. Ed.; Academic Press: New York, 1975; 1—142.
78. Gradzielski, M.; Hoffmann, H.; Panitz, J. C.; Wokaun, A. Investigations on L_2 phase and cubic phase in the system AOT/1-octanol/water. J. Colloid Interf. Sci. 1995, 169, 103—109.
79. Linemann, R.; Langer, J.; Schmidt, G.; Kratzat, K.; Richtering, W. Linear and nonlinear rheology of micellar solutions in the isotropic, cubic and hexagonal phase probed by rheo-small-angle light scattering. Rheol. Acta 1995, 34, 440—449.
80. Hertzberg, R. W. Deformation and Fracture Mechanics of Engineering Materials, 4th Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1996.
81. Warburton, B. Interfacial rheology. Curr. Opin. Colloid Interf. Sci. 1996, 1, 481—486.
82. Warburton, B. Rheology of Pharmaceutical Systems. In Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed. Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1996; Vol. 13; 371—407.

(刘小叶 译)

Z

制丸技术

Isaac Ghebre-Sellassie

Pfizer Global Research and Development, Morris Plains, New Jersey, U. S. A.

Axel Knoch

Pfizer Global Research and Development, Freiburg, Germany

引言

很久以来，“小丸”这个术语被很多行业用来描述各种各样团状的东西，这些团状物由不同的原料和生产设备制得。它们包括肥料、动物饲料、铁矿和药剂颗粒，故不仅在组成上不一样，而且在大小和形状上也不同。也就是说，对于不同的行业来说，小丸代表不同的东西。在制药行业中，小丸用来描述一种小的、具有流动性的球形的粒子，可通过适当的工艺设备，由药物和辅料的细粉或小粒相互聚集而成。这个词也可以用来描述长宽比比较均匀的小棒状物。尽管小丸一词在制药行业上已经用了超过四十年，但从 20 世纪 70 年代后期，随着缓控释技术的出现，与单剂量的剂型相比，小丸的优势才为人们所认识。

小丸在口服制剂的设计和开发上提供了很大程度的灵活性，它可以分成所希望的剂量，而不需要改变处方和工艺；也可以将生物活性不相容的药物混合同时给药，而不会发生相互反应，或（和）使制剂能够在胃肠道相同或不同位置以多种释药模式释放药物。另外，口服小丸在胃肠道分布均匀，使吸收更完全，减小某些刺激性药物对黏膜的刺激，减小个体差异[1]。

与单剂量的口服制剂相比，多颗粒系统具有很大的优势。近来，对现有的微丸制备技术进行了改进和优化，同时对用新处方和新设备制备小丸的新方法进行了研究。研究最多最常用的制丸工艺有粉末包裹法、溶液/混悬液包裹法和挤出滚圆法，先介绍定义然后详细描述。

在黏合剂的作用下，药物和辅料的干粉在预制的丸芯上连续地沉积，这就是干粉包裹法。因为干粉包裹法中干粉和黏合剂是同步使用的，所以通常需要专门的设备。设备方面主要要求物料容器应该是没有缝隙的坚实壁，在沉积到湿颗粒上之前，不能因为料斗有缝隙而导致粉末损失。

溶液/混悬液上药法是指药物和黏合剂的溶液连续地沉积在起始丸芯上，这里的起始丸芯由惰性材料制得，或者是相同药物的晶体/颗粒。原则上，常规包衣过程中的控制因素也适用于溶液/混悬液包裹。常规的包衣锅、流化床、离心造粒机和 Wurster 包衣机都在微丸制备上得到了成功的应用。制备过程的效率以及微丸的质量与选用的设备有一定的关系。

挤出滚圆法是一个多步骤的工艺过程，包括干粉混合、湿法制粒、挤出、滚圆、干燥和筛分。在制粒前，首先要用适当的混合设备将药物和辅料的干粉混合均匀，经过湿法制粒，形成具备塑性的团块物料，这样便于挤出。挤出的长条转移到滚圆设备中，与粗糙的旋转平板接触，在离心力的作用下，被甩到外围及物料室的壁上，立刻被截为短的圆柱体，最终由于重力，颗粒又落回到摩擦平板上，该过程不断循环，直到形成预期的球形小丸。

其他的制丸工艺，要么是在应用上有限制，要么就是还处在发展阶段，包括球形结聚法、喷雾干燥或冻凝法，以及一些新的技术如冷冻制丸法和熔融滚圆法等。

粉末上药（层积）法

第一个商业化的制丸设备是常规的包衣锅，该设备一直被制剂生产公司采用。起初很长一段时间用于包糖衣。在 20 世纪 50 年代的工厂中，为了延长固体口服制剂的释药时间，对微粒型释药系统的生产工艺进行了探索。糖丸作为生产缓控释小丸的起始丸芯[2]。这个工艺过程是糖丸制备过程的延续，将多层粉末和黏合剂连续地上到糖丸上[3]。从而，传统的包衣锅成为第一个制丸设备，不仅用来生产丸芯，还用来生产以这些丸芯为基础的缓释制剂。

但是，传统的包衣锅作为制丸设备有很大的限制，混合效果不好，干燥效率低。混合效果好坏综合了诸多因素，如锅体形状、倾斜角度、挡板、锅体转速。为了干燥均一，物料流动充分，消除操作过程中潜在的死角，增大产量，需要对上述这些参数进行优化。举个例子，在制丸过程中，椭圆形的锅因为比圆柱形的锅死角少而常被选用[1]。减小倾斜角也能减少死角的形成。如果转速太低的话，由于滤过作用，可能会发生分层现象，这样会使药物更多地黏附在大的丸上。另外，如果喷液速度过快，导致丸表面湿而黏，会延长微丸的接触时间，导致结块。

在粉末上药中，黏合剂溶液和细粉化的药物以控制好的速率同时加到丸芯上。开始的时候，药粉被黏附到起始丸芯上，接下来，在喷液形成的液桥作用下形成药丸。这种液桥最后会被固桥取代，这种固桥来自于溶剂中的黏合剂或任何溶剂中溶解的材料，包括药物本身。连续供药粉和喷液，直到微丸达到预期的大小。整个过程中，以一个预先确定的精确的速率供粉很重要，并且要在黏合剂喷液速率和供粉速率之间维持一个平衡。如果没有维持好预定的平衡供粉速率，就会发生过湿或粉尘过多，产品的质量

和产量都要受到影响。在上药结束的时候，由于微丸间及微丸和壁之间的碰撞，会产生很多细粉，并且混在最终的产品中，从而减少了产量。如果在结束的时候，用黏合剂溶剂对微丸进行小流速喷液以增加微丸表面的湿度，就能将细粉黏到微丸上去，从而克服这个问题。但是，需要注意的是，不能过湿，因为已经达到的粉-液平衡将会变化，需要做适当的调整。在理想的状态下，不会有结块的情况发生，颗粒的数目在工艺结束的时候应该和工艺开始的时候一致，唯一的差异只是微丸变大了，包衣锅中的物料总量变多了。

有些设备克服了包衣锅的不足之处，并且革新了微丸制备及粉末上药工艺，如切向喷或离心流化床造粒机。尽管切向喷设备最初是用来制粒的，但现在也用到了其他的方面，包括制丸和包衣。

尽管离心或旋转式制粒机有多种设计，但决定混合效果和工艺效率的操作原理是一样的，包括离心力、流化空气的速度和重力作用（图 1）。在上药过程中，这三种力共同使得物料床上的微粒产生了螺旋运动。以固定或变化的速度使旋转盘产生离心力，在离心力的作用下，微粒被推向外侧物料室壁。受控制的流化气体从旋转盘外围和壁之间吹进来，这股力量使得颗粒沿着物料室的壁垂直上升，一直到扩展室。丧失动力后，微粒在重力的作用下落到旋转盘的中央部分。这个循环不断重复，混合非常充分。混合均匀的程度取决于流化气体的体积和速度、气体狭缝的宽度、物料床的大小和旋转盘的转速。与喷液和供粉速度要保持平衡一样，雾化空气压力、流化气体温度和湿度，这些变量共同决定了微丸的产量和质量。

如同前面所提到的，决定离心流化床制丸工艺成功与否的关键因素是混合的均匀度，在一定程度上这是由旋转盘的线速度决定的。在低速时，混合程度是不足的，同时微粒螺旋运动的降低对工艺顺利进行也有影响。这样，微粒经过喷液区域的比率增大，可能导致微粒聚集。结块是低线速度时碰到的又一个严重的问题。在高线速度时，微粒和微粒之间，微粒和壁之间的摩擦力较大，还伴随着快速的微粒上下翻腾，床的倾斜，导致了严重的微粒磨损，当破坏力量大于微粒成长的力量时，工艺就不能进行了。这种情况下，不仅产生大量的粉尘，而且破损的颗粒还会作为一个丸芯被包裹药物。因为以初始空白丸作为丸芯的微丸，和这种以破损丸作为丸芯的微丸的药物含量是不一样的，就会导致含量均匀度的问题。不考虑微粒大小的话，最合适的转盘线速度通常为 3～8m/s[6]。在开始的时候，速度可以小一些，然后随着微粒变大而加快，在上药结束后的干燥过程中速度通常要降下来，以避免微丸破碎。

上药过程中另一个重要的参数是盘清除和狭缝宽度。在一些离心制粒机中，狭缝宽度是固定的，流化气速度只能跟着流化气流量而变化。而还有一些设备中，狭缝宽度是可以根据工艺需要进行调节。当盘清除增加的时候，空气速度就减小，微粒的沸腾状态就会减弱；相反的，盘清除减少，空气速度就增大，沸腾状态加强。因此，为了得

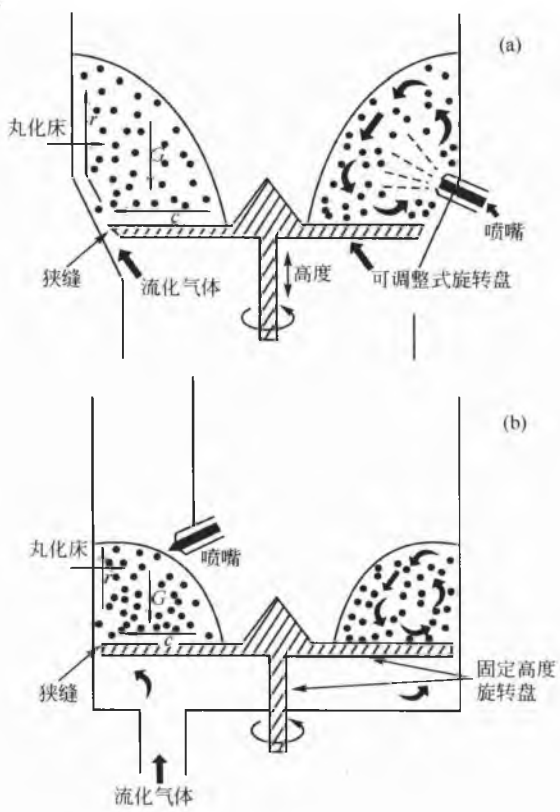


图 1 单壁物料室离心流化床设备及工艺的示意图。(a) Glatt GPCG 和 GPC 造粒机；(b) Freund CF 造粒机[5]

到最大的工艺效率，盘清除调节要根据以下这些因素，要避免微粒通过盘和流化室的壁间缝隙而损失，要尽量避免粉末进入排气系统，还要提供保持良好沸腾状态的流化气速度。

用这种工艺和设备要得到高产量，除了旋转盘外，喷液方式也很重要。在上药过程中，喷液跟微粒的运动状态无关。小液滴碰到微粒前经过的距离要短，假设在其他的工艺参数已经优化的前提下，这样雾化的液滴能够几乎完全地附着在微粒上，而没有落到流化室的壁上或者被喷雾干燥。

另外，粉末和黏合剂供应的速度也是很关键的参数，必须认真考察和评价。因为微粒表面的湿度/溶剂决定了微粒和加入粉末之间的黏结程度，供粉和喷液速度应该进行调节，以建立一个有利于上药的平衡。无论空气流量由负压控制（Glatt），还是由正压控制（Freund CF），能够很好地控制供粉速度在工艺工程中都是非常重要的。

在双壁的离心造粒机中，该过程在隔板开或关状态下进行（图 2）[7]。上药的时候，内隔板是关闭的，这样喷液和供粉可以同步进行，直到微丸增重至需要的大小。然后内隔板被升起来，微丸进入干燥区域。微丸被流化空气吹起，越过内隔板后回到形成区域。这个过程不断循环，直到微丸中水分达到要求。

在所有的流化床设备中，最关键的因素包括微丸的密

度、喷雾液滴的大小，还有微粒螺旋运动的状态。由于不止一个喷液枪，所以枪的摆放位置是特定的，要让微丸再次经过喷液区域前能得到合适的干燥。一般来说，限速步骤是溶剂在流化气体的饱和度。有时放大生产时，颗粒运动可能会失去螺旋状态，这时一定要插入隔板以增强螺旋运动[5]。

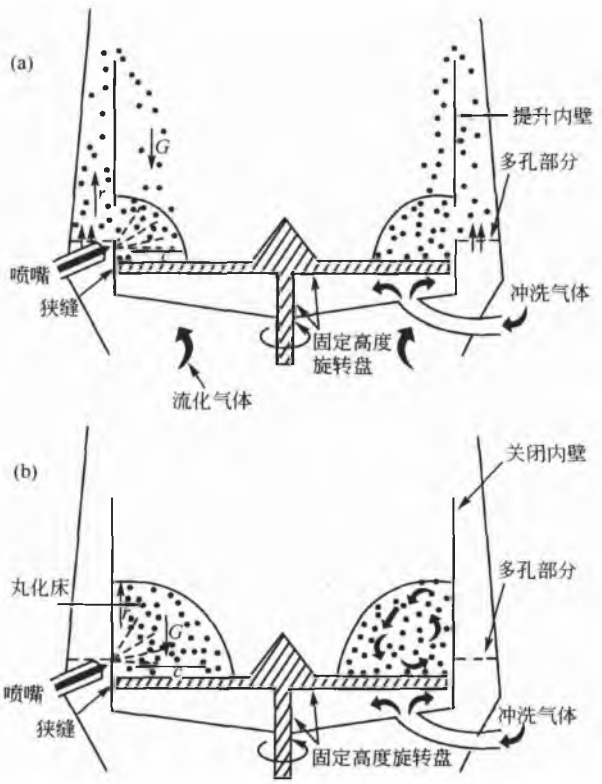


图 2 双壁物料室离心流化床设备及工艺的示意图（Nitro Aeromatic）。(a) 断开状态；(b) 闭合状态[5]

根据处方组成，还会碰到一些特殊的要求。黏合剂溶液要有高黏合力。上药前药物进行微粉化有助于提高上药过程的效率，有助于得到表面平滑的微丸，更有助于后续的包衣过程。但是，在大多数情况下，微粉会影响供料速度。在工艺过程中，粉末可能会黏在加料斗的边上，或加料推进器上，甚至会在加料斗中形成空洞。为了改善粉体的流动性，在上药工艺开始前，往粉末中加入助流剂。从化学上说，助流剂可能为疏水性的或者亲水性的，要根据处方类型进行选择。

最后，黏合剂的流变学性质，喷液速度和干燥空气的温度应该被优化，从而得到适宜的物料温度。另外，供粉速度要能使得微丸表面湿度和粉末能够黏附两者维持平衡。如果物料温度太高，粉末得不到湿润就会进入排出系统而损失；如果过低，就会导致结块，和（或）形成新的核心而被继续包裹。如果这样，产品的含量均匀度就会受到影响。因此，应该优化物料温度，使得微粒数量在上药工艺前后不发生什么变化。

溶液/混悬液上药

30 多年前发明的 Wurster 包衣工艺，通过精心设计改良，已经发展出了适于溶液/混悬液上药的经典设备。高干燥效率，以及具有创新性和高效率的设计特点使得 Wurster 机器在制药技术领域获得了中心地位。不仅微丸的生产和包衣已经常用且有效率，而且工艺放大经济可行。小批量生产的工艺经验对大批量生产有借鉴意义，这对任何工艺技术都是非常重要的。

有别于其他的流化床设备，Wurster 设备在物料室内设有圆柱形的隔离壁，还有流化气分配盘（一个多孔的圆盘）（图 3 和图 4）。后者使大多数流化干燥空气以高速在喷嘴周围通过，吹起微丸有利于上药或包衣。一旦微丸出了这个区域，他们将进入扩展室，这里空气速度会下降，微粒在隔离壁外围落下。通过流化气体分配盘外围上的小孔，床体底部以小部分的气体鼓风。因为吸力，在床体底部的微粒迅速通过空气分配盘和隔离壁间的空隙而重新开始这个过程，这里的吸力是由高速流动的空气形成的。流化床底部隔离壁外的空气流量足够产生适度的微粒运动。因为喷液方向与微粒运动方向同向，颗粒运动在适宜的条件下与喷液能够吻合得很好，所以可以实现连续均匀地上药。因

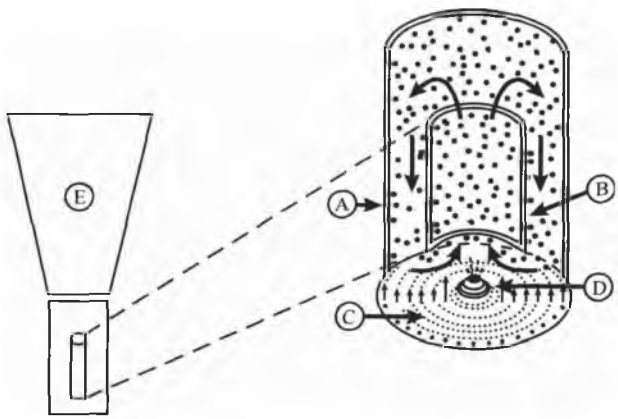


图 3 Wurster 物料室和工艺的示意图。Ⓐ样品室；Ⓑ隔离壁；Ⓒ多孔板；Ⓒ喷嘴；Ⓔ膨胀室[6]



图 4 Wurster 包衣锅的风量分配器或多孔板[5]

为隔离壁高度，分配盘和隔离壁之间的间隙控制着颗粒进入喷液区域的速度，这是一个每做一批样品都要优化的重要工艺参数。举例来说，在物料量和流化气流量一定的条件下，隔离壁高度可以调节，从而使得微粒运动或者得到良好控制，或者处在一个紊乱且无效率的状态。

Wurster 工艺的不利之处是工艺过程中喷嘴无法接触，如果喷嘴堵塞，操作必须中断，把喷枪拿出来清洗。通过过滤处方溶液或用较大的喷嘴可以减轻这个问题。另外一个问题是当使用多喷枪时，尽管喷枪的位置是固定的，喷液区域可能会重叠。可以用在喷枪末端装空气帽的方法减小重叠喷液区域。

在放大过程中，物料室中隔室的数量增加，但隔室的直径不变。这样做的目的是为了保持微粒运动过程与试验时单隔室的情况一致。流化空气量增加以补偿喷液区域的增加，因此在所有的隔室中，微粒都能有很好的运动状态。如果流化气流量太大，很可能产生紊乱的状态，对上药产生不利的影响。流化气流量也很关键，因为它决定了喷液速度。

另外用于溶液/混悬液上药的设备是切向喷或离心造粒机。该工艺早期要确定一个重要的参数，就是起始丸芯的数量，最少要能够覆盖住喷枪。否则，被喷出来的液滴不是到物料室壁上就是被流化气带走，后者会导致过滤器堵塞，这不仅使过滤器的压力增加，影响产品，而且会给机器清洗带来困难。另外一种情况，产量以及微粒的质量会急剧降低。随着形成微丸的体积增加，物料变多，流化气体的流量也应该持续增加，使物料能进行适宜地扩展和混合，保持螺旋运动状态。如果不能达到这种微粒运动状态，说明物料可能过载，工艺过程要被终止。在上药过程中，微丸在垂直和水平方向上扩展，因此，在单步操作中可以观察到一批产品的质量增加几倍。

在溶液/混悬液上药过程中，处方的每个成分被溶解或混悬在溶剂中，得到的溶液/混悬液应有合适的黏度。喷出的液滴应很快碰到丸芯，在其表面均匀地铺展，同时要有较好的干燥条件和流化动力。在干燥过程中，溶解或混悬的物质沉淀下来形成固桥，使得处方中的物质能够聚集在一起，并且一层层地包裹在丸芯上。该过程不断进行，直到符合要求。微粒长大的速度很慢，限速步骤是溶剂的迁移。而且喷出的雾滴应有必要的流变学性质，这样才能在微丸表面均匀地铺展。另外，必须要有一个适宜的溶剂蒸发过程。蒸发速度不能过快而影响黏合剂的作用，也不能太慢而过湿导致黏结。理想的情况是，没有新的丸芯形成，微粒的数量保持不变。但是，微粒的体积随时间而增大，整个物料的量也随之增加。

尽管对于一个成功微粒产品的开发来说，工艺参数的优化很重要，但是如果处方对工艺参数变化不敏感的话，微丸大量生产时仍然是按照常规的参数设定进行的。因此，在研究阶段，无论在性质上，还是数量上，仔细优化确定处方的特征是必须的。这包括药物溶解性、黏合剂的类型和浓度、上药溶液/混悬液的黏度。使用时的黏度范围通常决定了被喷至丸芯上的处方的固体含量。

溶液/混悬液上药一般是微丸剂量比较低的时候采用，因为欲得到一个高载药的微丸，采用一个低固体含量的处方溶液/混悬液上药，可行性差，也不经济。当使用混悬液时，还有一个重要的因素需要考虑，即药物颗粒的大小问题。微粉化的药物颗粒能够使得到的微丸表面光滑，这对后面的包衣工艺很有利。如果混悬液中药物颗粒较大的话，为了能固定这些药物，黏合剂的用量就会很高，结果可能得到一些低含量的微丸，微丸的形态也会粗糙影响后面的包衣操作。另外，由于在上药过程中摩擦力增加，药物颗粒容易从丸芯上脱离，产量通常也较低。

尽管生产不含黏合剂的载药微丸是可能的，但是这样的微丸在上药的后阶段和干燥阶段中，药物层容易从丸芯上剥离，因此在溶液/混悬液上药中通常使用黏合剂。黏合剂一般选用低分子量的聚合物，并且要与药物没有配伍禁忌，它们不应该增加处方的黏性或改变释药性能，除非是出于制剂设计的目的。

挤出滚圆法

挤出滚圆法起源于 20 世纪 60 年代，已有广泛的研究和讨论。该技术的优势在学术讨论会议和文献中都有表述。这是唯一一种不仅适用于大剂量微丸制备，而且可以不需包衣直接就能制得缓释微丸的技术。

挤出滚圆法属多步骤工艺，涉及多种设备，其中最关键的是对产量影响大的挤出和滚圆的设备[8]。

目前市场上有一系列有着不同设计特性和操作方法的挤出设备，可分为螺旋挤出，重力挤出和填塞挤出等类型。

螺旋饲料挤出设备有沿水平轴线方向的螺杆，螺杆旋转沿水平方向运送物料。物料可以顺轴方向挤出，也可以从轴四周方向挤出（图 5）。轴向的挤出设备，沿轴方向放置金属板，由加料的区域、压缩区域和挤出区域组成。在挤出过程中，产品的温度由夹套控制。在放射型的设备中，传送区域较短，物料从位于水平轴四周的孔中挤出来。

重力型挤出设备包括旋转圆柱体和旋转齿轮挤出装置，最初有两种不同的设计（图 6）。在旋转圆柱挤出设备中，

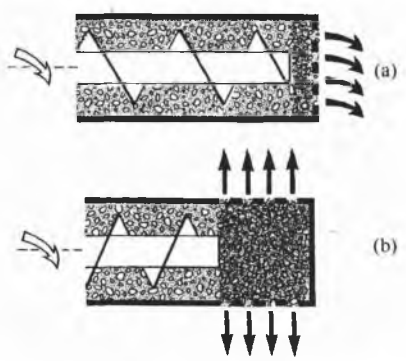


图 5 螺旋饲料挤出机的示意图。(a) 轴向型挤出机；(b) 放射型挤出机

其中一个旋转柱是中空且有孔的，另外一个圆柱是实心的，起产生压力的滚筒作用。在所谓的旋转齿轮挤出设备中，则有两个中空的，有孔的，相互齿合的齿轮。

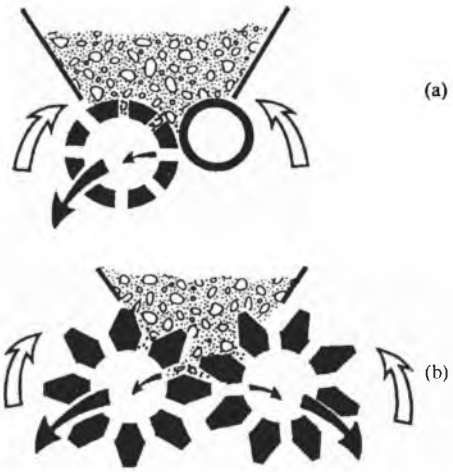


图 6 重力饲料式挤出机的示意图。(a) 旋转圆柱体挤出机；(b) 旋转齿轮式挤出机

填塞型的挤出设备，一个活塞推动物料通过末端位置的金属模具（图 7）。这种挤出设备在处方优化时是首先考虑的，因为这种设计考虑到了处方流变性质的测量[9~11]。

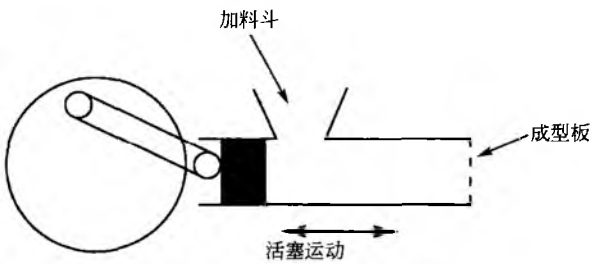


图 7 填塞式挤出机的示意图[9]

因为挤出设备的最初设计目的是用于其他行业，而并非用于制药工业，所以它们的设计不符合 GMP 的要求。因此，必须做一些改进以适应制药工业的标准和要求。首先设备中接触物料的部分必须采用高质量的不锈钢，结构要便于清洁。无论什么时候，设备应该能够提供关键的工艺参数，如成型板的压力、物料温度、耗电功率、驱动单元的转矩、螺杆的转度。一篇描述挤出机 GMP 要求的文章重点强调了适用于临床样品制备的挤出机的资格认证[12]。

挤出滚圆的工艺在 1964 年随着制丸机的发明而被引入制药工业[13]。随后机器有了巨大的改进，目前市场上已有设计优良的制丸机。一个制丸机或滚圆机包括一个不动的圆柱体或定子，和一个位于底部能产生摩擦力的旋转圆盘。定子可以套上夹套以控制温度。表面有很多凹槽的摩擦圆盘是这个设备最关键的部分。一个典型的摩擦圆盘上的摩擦凹槽呈交叉式样，凹槽线交叉角度为 90°（图 8）。凹槽宽度可根据需要的微丸直径来选择，通常槽直径是目标丸直径的 1.5～2 倍。摩擦盘直径大约在 20cm 的设备属实验室型，而 1m 左右的则用于规模生产。摩擦盘的转速根据微丸的直径可在 100～2000r/min 之间调整。

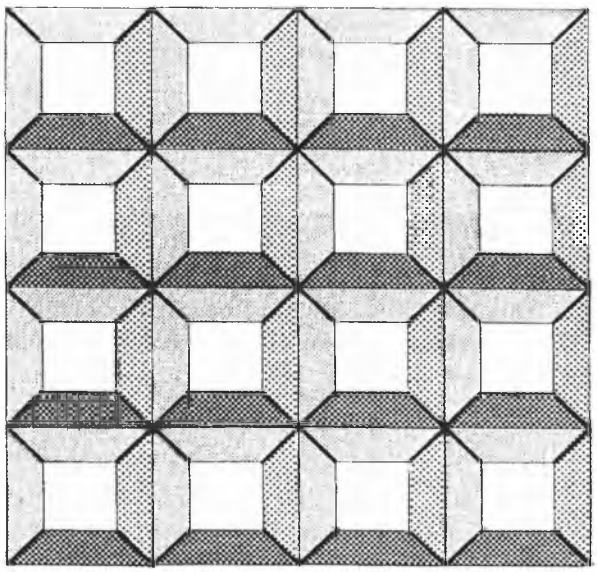


图 8 交叉凹槽式样的滚圆摩擦圆盘的示意图

新进入市场的一种新型滚圆机，即所谓的空气助流式滚圆机，它与标准的滚圆机基本上类似，但它具有可调节的从旋转盘下面吹上来的气流，该气流通过圆柱形的壁和摩擦盘之间的缝隙。这个附加的功能改善了微丸的翻转状况，使得微丸呈螺线形运动，便于成丸。

轴向型的挤出设备挤出的物料比较紧密。双螺旋的挤出设备与单螺旋的设备比，有着更高的物料传送效率和更高的产量。放射型的挤出设备与轴向型的比较，有更高的产量，但是挤出的物料相对不够紧密。生产过程中，这种挤出设备温度上升非常少，可能是因为压缩区域短和孔深度浅。这个特点不仅使得滚圆工艺过程便于控制，而且可以用于热敏感药物的挤出工艺。

挤出这个工艺步骤是高产量的连续过程，而接下来的步骤（滚圆、干燥和筛分）是分批的工艺，因此是限速步骤。所以挤出滚圆工艺是一个分批工艺，而不是连续的工艺。通过把挤出的物料送入两个滚圆机，可以使这个工艺成为半连续的过程。一个滚圆机在滚圆挤出的物料，另一个则将制好的微丸倒出，并装入新的挤出物料，两个滚圆机交替重复这个过程。

在一个批次的工艺过程中，定量的挤出物料从滚圆机的上部加入，成丸后在离心力的作用下从底部出料。挤出物料在颗粒间及颗粒与壁之间的摩擦力作用下滚圆。这个工艺过程各个步骤见图 9。滚圆时间一般为 2～15min，根据处方特性不同而变化。如果挤出物料成分不变，包括水分，则工艺过程的时间恒定。因为处方中有大量的水或溶剂，所以最终的微丸湿度比较大，在进一步的加工前，要作烘箱或流化床干燥处理。如果微丸大小分布比期望的要宽，那么筛分步骤必不可少，这样可以分离去掉一些不合

格的丸。通常，微丸是球形的，并且粒径范围分布比较窄。影响产量和质量的关键工艺参数是凹槽的设计、摩擦盘转速和滚圆时间。

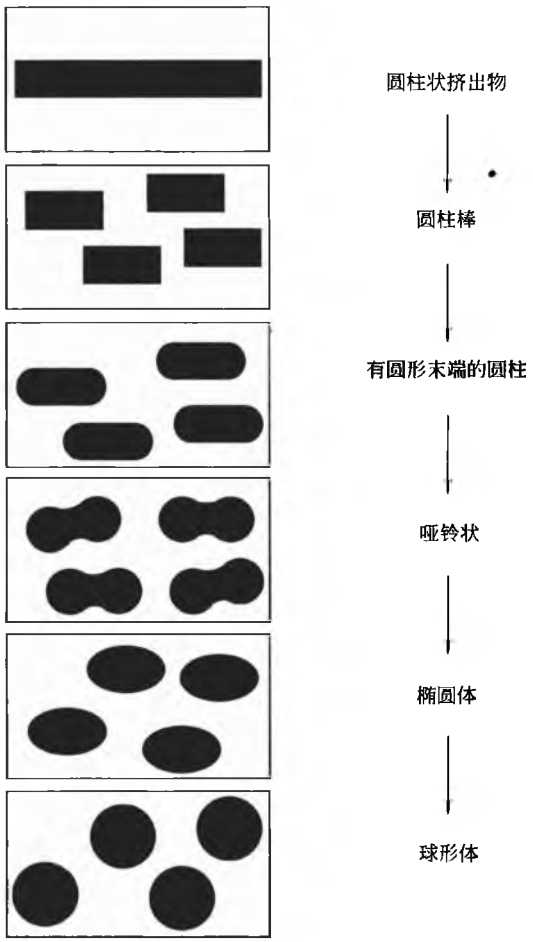


图 9 滚圆过程中的形状转变

在挤出滚圆工艺中，处方中的成分，如填充剂、润滑剂、pH 调节剂在制丸中都起很重要的作用。软材必须有塑性、足够的黏着性和自润滑作用。在滚圆过程中，挤出物料在一个合适的长度断开是很重要的，且有足够的表面湿度来提高大小均一的、圆整度高的微丸得率。

颗粒的湿度是另外一个需要优化的关键因素。低湿度的颗粒可能在滚圆的过程中产生大量的细粉。如果湿度过高，会相互黏结，形成长条状，而不能进一步地加工。因此，挤出物料在挤出过程中必须有足够的机械强度以形成长条状，但同时又能在滚圆的过程中被轻易地打碎成均一的短棒，最终才能形成大小分布均匀的微丸。通常，软材的水含量在 20%～30%，在碰到稳定性或溶解度问题时，可以使用如乙醇或醇水混合物的溶剂。

赋形剂在挤出滚圆工艺中起的作用要大于其他的制丸工艺[14]。他们能使得挤出变得容易，并且提高微丸的圆整度，也使得微丸更坚实和完整。微晶纤维素是一个应用广泛的材料，用来作为填充剂和辅助成丸材料，能调节颗粒中水的含量和分布。它能改善流变学性质，使微粒具有塑性。乳糖是另一种被深入研究过的辅料，它曾被用于评估挤出滚圆法制备微丸的机理。

与前述上药工艺比较，挤出滚圆法可直接用于制备有缓释性能的微丸，不需要包功能性衣膜。举例说，骨架型微丸可以用微晶纤维素和羧甲基纤维素钠[15,16]混合物。有机酸可以加入微丸骨架材料中，使敏感性药物稳定或修饰释药性能，特别在药物溶解度具有 pH 依赖性时[17]。另外，尽管水和其他制粒溶剂在挤出过程中有润滑的作用，但有时还是需要加入润滑剂以改善工艺过程。

药物本身在制丸过程中也起很重要的作用，特别在高剂量的情况下。诸如药粉粒度、晶型，润湿性和溶解度这些物理化学性质不仅决定了可以加入处方的药量，还决定了微丸的质量、最终微丸的形状和表面光滑度。

因而得到了大量研究挤出滚圆法工艺复杂，依赖于大量的处方和工艺参数（表 1）。一些研究采用了多因素统计设计来确定哪些因素是决定性的[12,18~20]。尽管已有大量的研究工作，但在一些科学杂志中仍能看到进一步的研究报道[21~28]。

表 1 挤出-滚圆中的重要因素

	性 质	显著性[1)]	参考文献
药物	粒径	+++	
	粒径分布	++	
	粒子形状	+++	
	溶解度	++	[26]
处方	水分含量	+++	[23~25,27,28]
	水温	+	[25]
	赋形剂类型	+++	[13,18,19,24,19,26]
	赋形剂浓度	++	[24,26]
	赋形剂粒径	++	[13,13,28]
挤出	挤出机类型	++	[13]
	挤出机速度	++	[14,15,22~23,25]
	挤出筛号	+++	[22,24]
	成型板的厚度	+	[14,15,30]
滚圆	滚圆机速度（r/min）	+++	[23~25,27,25,29]
	滚圆机载量	+	[23,24]
	滚圆时间	+++	[23~25]
	摩擦盘设计	+	

1）相对显著性：+，低；++，中；+++，高。

球形结聚法

球形结聚法是指粉末在加入适量的液体时或在高温下，持续搅拌，形成微丸的方法。球形结聚法可分成两类：液体诱导法和熔融诱导法。经过这些年，球形结聚法已经在

水平筒式制丸机、倾斜盘式制丸机、翻转搅拌机中完成。最近更多采用了旋转流化制粒机和高剪切混合器等技术。尽管球形结聚法已经用于铁矿和肥料工业，但它在药剂工业中的应用还刚开始。作为研究最透彻的制丸工艺之一，已经提出了很多关于该工艺中不同阶段微丸成型的机理[29]。

在液体诱导结聚法中，在搅拌前或搅拌中，将液体加到粉末中。当粉末与液体接触的时候，通过液桥作用，形成了块或核。然后会被固桥取代，液体中溶解的其他材料或黏合剂形成固桥。小核相互碰撞，形成更大的核或微粒。这个合并的过程持续进行，一直到黏合的力量小于破碎的力量。这时，合并会被包裹取代，因此小的微粒黏附在大的微粒上，使后者变得更大，直到制丸过程结束[30,31]。如果表面湿度不合适，一些微粒可能会以不同的速度成核或合并，并且形成不同大小的核，结果导致微丸粒径分布过大。

结聚的速度和程度部分取决于处方因素，如粒子大小和粉末溶解性、液体浸润程度，液体的黏度。湿度特别重要，因为它决定丸的核心能否形成，形成的核是否有足够的塑性使两个核碰撞后能够融合。而且，只有当表面湿度超过临界值时，细小颗粒才能包裹在大的颗粒上。结聚的速度和程度也取决于工艺变量，这些变量对于一个给定的设备来说是明确的。比如用筒状的制丸设备，筒的转速、持续时间、载量、倾斜角度都是一些关键的需要优化的工艺参数。对于用离心流化床制丸设备进行球形结聚工艺来说，转盘转速、载量、持续时间、流化气量、温度和盘清除是关键的工艺参数[32~43]。

熔融结聚工艺与液体结聚工艺类似，只是黏合材料是熔融物。因此微丸成型依靠材料的凝结，而不需要通过形成基于溶剂的液桥[44~55]。

喷雾干燥和喷雾凝结

该工艺是将热熔融液、溶液或混悬液雾化形成球形小丸的方法。两种工艺均需保持小的液滴使蒸发或冷凝的速度最大，因此得到的微丸也比较小。在喷雾干燥过程中，含有药物的溶液或混悬液被喷到热气流中而得到圆整度高的干颗粒。当雾化的液滴接触热空气的时候，开始蒸发，这个干燥过程通过一系列的阶段持续进行，液滴的黏度持续增加直到液体介质完全被蒸干，最后形成了固体颗粒。通常喷雾干燥的颗粒是多孔的具有渗透性的。Masters 有关于喷雾干燥的详细讨论[56]。

在喷雾冷凝的过程中，药物处于熔融状态，分散或者溶解在熔融的蜡或脂肪酸这一类物质中，然后被喷雾到一个气室中，其中的温度低于处方成分的熔融温度，在合适的条件下得到球形的冷凝丸。该工艺的关键条件之一是处方中的成分有较短的熔程，即冷凝要迅速。因该工艺不含溶剂的蒸发，所以所得微丸很紧密且无孔。见 Atilla Suheylo，有相关的详细论述[57]。

冷冻制丸法

冷冻制丸法是用液氮作为固定剂将液滴转变成固体小丸的方法。该工艺方法最初用于黏性细菌混悬液的冻干，现在可用于在－160℃液氮中制备载药微丸。由于热传递过程很迅速，该工艺的冷冻效果迅速而均匀。微丸干燥用常规的冷冻干燥法。液滴体积小，因此较大的表面积使得干燥较容易。液氮所需的量取决于固体含量和溶液/混悬液的温度。通常得到 1kg 的丸需用液氮 3～5kg。

设备包括一个在底部装有多孔金属盘的容器。紧接在金属盘下面预定的距离上的是一个装有液氮的容器，一个传送带浸没在其中。传送带可以调节速度，提供合适的冷冻时间。多孔的金属盘产生液滴，液滴接触到液氮的时候迅速冷冻。冷冻好的丸被送到一个－60℃的容器中，然后干燥。实验室规模和生产规模的设备都有商业化产品[58,59]。

这个工艺中最关键的步骤是产生液滴，这不仅与处方因素相关，诸如黏度、表面张力和固体含量，还与机器设计及工艺参数相关。底盘上孔洞的直径和锋利边缘的设计很关键。举例说，孔的直径决定了流出的速度，当然流出的速度也与处方的黏度有关。孔的直径也会影响微丸的大小和形状，孔越小，丸越小。

液滴的形状取决于液滴在接触到液氮之前经过的距离。这个距离必须给液滴成型提供足够的时间。当所有的参数都优化好后，就可以得到平滑的圆整度高的小丸。在希望得到直径小于 2mm 的丸时，需要搅动液氮以防结块。

用于冷冻制丸的溶液或混悬液有高的固体含量和低黏度。另一个重要的性质是处方液体的表面张力，这对丸的大小有一定影响。加入表面活性剂能减小表面张力，从而使丸变小。丸的大小与药物的性质也有一定关系。

典型的速释处方含有药物，填充剂如甘露醇和乳糖，黏合剂如明胶、水解明胶和聚维酮。由胶原衍生出来的交联生物聚合材料可用来制备具缓释性能的微丸[59,60]。

熔融制丸法

药物和辅料先转变为一种熔融或半熔融状态，然后用适当的设备成型得到固态微丸。该工艺需要搅拌机、挤出设备、切割机（塑料工业中）和滚圆机。药物先与聚合物和蜡等适宜辅料混合，在一设定温度下挤出。必须有足够高的挤出温度才能让处方中的一种或更多的成分熔融。挤出物由切割机割成均匀的圆柱体小段，然后在滚圆机中成为大小均匀的丸。滚圆过程中的温度要能让挤出物部分软化，便于重新塑成均一的丸[61]。用不同性质的辅料，可以在一步工艺中制得具有速释或缓释性能的丸。这种工艺方法制得的丸具有其他工艺都不具备的特性，即丸大小一致。但是这种工艺仍然在研究发展阶段，要想成为一种可行的制丸技术，还有很多工作要做。

参考文献

1. Beachgaard, H.; Nielson, G. H. Controlled Release Multiple Units and Single Unit Doses. Drug Dev. Ind. Pharm. 1978, 4, 53—67.
2. Special Delivery: Advances in Drug Therapy. The Research News; University of Michigan, 1986; 1.
3. Cimicata, L. E. How to Manufacture and Polish Smallest Pan Goods-Nonpareil Seeds. Confectioners J. 1951, 41—43.
4. Chambliss, W. C. Conventional and Specialized Coating Pans. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 16—17.
5. Jan, S.; Goodhart, F. W. Dry Powder Layering. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 182—183.
6. Jones, D. M. Solution and Suspension Layering. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 158—159.
7. Niro-Aeromatic Product Manual Niro-Aeromatic, Inc.: Columbia, MD, 1992.
8. Hicks, D. C.; Freese, H. L. Extrusion Spheronization Equipment. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989; 71—100.
9. Fielden, K. E.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. A Comparison of the Extrusion and Spheronization Behavior of Wet Powder Masses Processed by a Ram Extruder and a Cylinder Extruder. Int. J. Pharm. 1992, 81, 225—233.
10. Fielden, K. E.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. The Effect of Lactose Particle Size on the Extrusion Properties of Microcrystalline Cellulose-Lactose Mixtures. J. Pharm. Pharmacol. 1989, 41, 217—221.
11. Dietrich, R.; Brausse, R. Erste Erfahrungen Und Validierungsversuche an Einem Neu Entwickelten GMP-Gerechten Und Instrumentierten Pharma-Extruder. Pharm. Ind. 1988, 50 (10), 1179—1186.
12. Dietrich, R. Food Technology Transfers to Pellet Production. Manuf. Chem. 1989, 8, 29—33.
13. Nakahara N. Method and Apparatus for Making Spherical Granules U. S. Patent. 3, 277, 520, 1964.
14. Harris, M. R.; Ghebre-Sellassie, I. Formulation Variables. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989, 217—239.
15. O'Conner, R. E.; Schwartz, J. B. Spheronization II. Drug Release from Drug Diluent Mixtures. Drug Dev. Ind. Pharm. 1985, 11 (9, 10), 1837—1857.
16. Ghali, E. S.; Klinger, G. H.; Schwartz, J. B. Modified Drug Release from Beads Prepared with Combinations of Two Grades of Microcrystalline Cellulose. Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15 (9), 1455—1473.
17. Bianchini, R.; Bruni, R.; Gazzaniga, A.; Vecchio, C. Influence of Extrusion/Spheronization Processing on the Physical Properties of D-Indobufen Pellets Containing pH Adjusters. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18 (14), 1485—1503.
18. Mesiha, M. S.; Valles, J. A Screening Study of Lubricants in Wet Powder Masses Suitable for Extrusion-Spheronization. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (8), 943—959.
19. Hasznos, L.; Langer, I.; Gyarmathy, M. Some Factors Influencing Pellet Characteristics Made by an Extrusion/Spheronization Process. I. Effects on Size Characteristics and Moisture Content Decrease of Pellets. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18 (4), 409—439.
20. Hileman, G. A.; Goskonda, S. R.; Spalitto, A. J.; Upadrashta, S. M. A Factorial Approach to High Dose Product Development by an Extrusion/Spheronization Process. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (4), 483—491.
21. Ku, C. C.; Joshi, Y. M.; Bergum, J. S.; Jain, N. B. Bead Manufacture by Extrusion/Spheronization. A Statistical Design for Process Optimization. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (13), 1505—1519.
22. Baert, L.; Fanara, D.; Remon, J. P.; Massart, D. Correlation of Extrusion Forces, Raw Materials and Sphere Characteristics. J. Pharm. Pharmacol. 1992, 44, 676—678.
23. Battaille, B.; Rahman, L.; Jacob, M. Etude Des Parametres de Formulation Sur Les Characteristiques Physico-Techniques de Granules de Theophylline Obtenus Par Extrusion-Spheronisation. Pharma. Acta Helv. 1991, 66 (8), 223—236.
24. Newton, J. M.; Chow, A. K.; Jeewa, K. B. The Effect of Excipient Source on Spherical Granules Made by Extrusion/Spheronization. Pharm. Tech. 1993, 3. 166—174.
25. Bataille, B.; Ligarski, K.; Jacob, M.; Thomas, C.; Duru, C. Study of the Influence of Spheronization and Drying Conditions on the Physico-Mechanical Properties of Neutral Spheroids Containing Avicel pH 101 and Lactose. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19 (6), 653—671.
26. Helen, L.; Yliruusi, J.; Muttonen, E. Process Variables of the Radial Screen Extruder, II, Size and Size Distribution of Pellets. Pharm. Tech. Int. 1993, 1, 44—53.

Z

27. Lindner, H.; Kleinebudde, P. Use of Powdered Cellulose for the Production of Pellets by Extrusion/Spheronization. J. Pharm. Pharmacol. 1994, 46, 2—7.
28. Kleinebudde, P. Use of a Power-Consumption-Controlled Extruder in the Development of Pellet Formulations. J. Pharm. Sci. 1997, 84 (10), 1259—1264.
29. Kleinebudde, P. Crystallite-Gel-Model for Microcrystalline Cellulose in Wet-Granulation, Extrusion, and Spheronization. Pharm. Res. 1997, 14, 804—809.
30. Ghebre-Sellassie, I. Mechanism of Pellet Formation and Growth. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 123—143.
31. Wan, L. S. C. Manufacture of Core Pellet Formation and Growth. Pharmaceutical Pelletization Technology; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker. Inc.; New York, 1989; 123—143.
32. Vecchio, C.; Bruni, G.; Gazzaniga, A. Preparation of Indobufen Pellets by Using Centrifugal Rotary Fluidized Bed Equipment Without Starting Seeds. Drug Dev. Ind. Pharm. 1994, 20 (12), 1943—1956.
33. Holm, P.; Bonde, M.; Wigmore, T. Pelletization by Granulation in a Roto-Processor RP-2. I. Effects of Process and Product Variables on Granule Growth. Pharm. Technol. Eur. Sep, 1996, 8, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36.
34. Holm, P. Pelletization by Granulation in a Roto-Processor RP-2. Effects of Process and Product Variables on Agglomerates' Shape and Porosity. Pharm. Technol. Eur. Oct, 1996, 8, 38—45.
35. Vertommen, J.; Kinget, R. Influence of Five Selected Processing and Formulation Variables on the Particle Size Distribution, and Friability of Pellets Produced in a Rotary Processor. Drug Dev. Ind. Pharm. 1997, 23 (1), 39—46.
36. Vertommen, J.; Rombaut, P.; Kinget, R. Shape and Surface Smoothness of Pellets Made in a Rotary Processor. Int. J. Pharm. Jan 1, 1997, 146, 21—29.
37. Vertommen, J.; Rombaut, P.; Kinget, R. Internal and External Structure of Pellets Made in a Rotary Processor. Int. J. Pharm. Feb 23, 1998, 161, 225—236.
38. Vertommen, J.; Rombaut, P.; Michoel, A.; Kinget, R. Estimation of the Amount of Water Removed by Gap and Atomization Air Streams During Pelletization in a Rotary Processor. Pharm. Dev. Technol. 1998, 3 (1), 63—72.
39. Vojnovic, D.; Rupena, P.; Moneghini, M.; Rubessa, F.; Sergent, M.; Experimental Research Methodology Applied to Wet Granulation in a High-Shear Mixer. I. S. T. P. II Pharma Sci. 1993, 3 (2), 130—135.
40. Holm, P.; Shaefer, T.; Kristensen, H. G. Pelletization by Controlled Wet Granulation in a High-Shear Mixer. S. T. P. Pharma Sci. 1993, 3 (2), 130—135.
41. Vertommen, J.; Michoel, A.; Rombaut, P.; Kinget, R. Production of Pseudophedrine HCl Pellets in a High Shear Mixer-Granulator. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1994, 40 (1), 32—35.
42. Vojnovic, D.; Moneghini, M.; Masiello, S. Design and Optimization of Theophylline Pellets Obtained by Wet Speronization in a High-Shear Mixer. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21 (18), 2129—2137.
43. Maggi, L.; Bonfanti, A.; Santi, P.; Massimo, G.; Catellani, P. L.; Belloti, A.; Colombo, P.; Zanchetta, A.; Suitability of a Small Scale High-Shear Mixer for Powder Pelletization. Pharm. Technol. Eur. Oct, 1996, 8, 82, 84, 86, 88—90.
44. Schaefer, T.; Holm, P.; Kristensen, H. G. Melt Granulation in a Laboratory Scale High Shear Mixer. Drug Dev. Ind. Pharm. 1990, 16 (8), 1249—1277.
45. Shaefer, T.; Holm, P.; Kristensen, H. G. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. 1. Effects of Process Variables and Binder. Acta Pharm. Nordica 1992, 4 (3), 133—140.
46. Shaefer, T.; Holm, P.; Kristensen, H. G. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. Ⅱ. Power Consumption and Granule Growth. Acta Pharm. Nordica 1992, 4 (3), 141—148.
47. Shaefer, T.; Holm, P.; Kristensen, H. G. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. Ⅲ. Effects of Lactose Quality. Acta Pharm. Nordica 1992, 4 (4), 245—252.
48. Schaefer, T.; Taagegaard, B.; Thomsen, L. J.; Kristensen, H. G. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. Ⅳ. Effects of Process Variables in a Laboratory Scale Mixer. Eur. J. Pharm. Sci. 1993, 1 (3), 125—131.
49. Shaefer, T.; Taageraard, B.; Thomsen, L. J.; Kristensen, H. G. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. V. Effects of Apparatus Variables. Eur. J. Pharm. Sci. 1993, 1 (3), 133—141.
50. Shaefer, T. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. X. Agglomeration of Binary Mixtures. Int. J. Pharm. Aug 9, 1996, 149—159.
51. Shaefer, T.; Mathiesen, C. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. Ⅶ. Effects of Product Temperature. Int. J. Pharm. May 28, 1996, 134, 105—117.
52. Schaefer, T.; Mathieson, C. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. Ⅷ Effects of Binder Viscosity. Int. J. Pharm. Aug 9, 1996, 139, 125—138.
53. Shaefer, T.; Mathiesen, C. Melt Pelletization in a High Shear Mixer. IX. Effects of Binder Particle Size. Int. J.

Pharm. Aug 9, 1996, 139, 139—148.

54. Maejima, T.; Osawa, T.; Nakajima, K.; Kobayashi, M. Preparation of Spherical Beads without Any Use of Solvents by a Novel Tumbling Melt Granulation (TMG) Method. Chem. Pharm. Bull. 1997, 45, 518—524.
55. Maejima, T.; Osawa, T.; Nakajima, K.; Kobayashi, M. Effects of Species of Non-Meltable and Meltable Materials and Their Physical Properties on Granulatability in Tumbling Melt Granulation Method. Chem. Pharm. Bull. 1997, 45, 1833—1839.
56. Masters, K. Spray Drying Handbook, 4th Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1985.
57. Atilla, H. A.; Suheyla, K. H. Preparation of Micropellets by Spray Congealing. Multiparticulate Oral Drug Delivery; Ghebre-Sellassie, I., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1994; 17—34.
58. European Patent EP 0, 081, 913, 1985.
59. German Patent DE 37 11 169, 1988.
60. Knoch, A. Cryopelletization. Multiparticulate Oral Drug Delivery; Ghebre-Sellassie, I. Ed.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1994; 35—50.
61. Ghebre-Sellassie, I.; Nesbitt, R.; Fawzi M. Novel Pharmaceutical Pellets and Process for Their Production PCT Application, WO 93/07859, April 29, 1993.
62. Harrison, P. J.; Newton, J. M.; Rowe, R. C. The Characterization of Wet Powder Masses Suitable for Extrusion/ Spheronization. J. Pharm. Pharmacol. 1985, 37, 686—691.

（奚 泉 译）

Z

制药工业用弹性体

Edward J. Smith

Packaging Science Resources, King of Prussia, Pennsylvania, U. S. A.

引言

制药工业中用于药物和医用装置的弹性体的主要功能是保护和输送药物。由于弹性体与（或可能与）药物直接接触，故而是一个十分重要的包装材料。弹性体必须不与药物作用，不能吸附药物，也不得向药物中释出其他物质。弹性体或橡胶件因其优异的物理性质而专门用作不同规格、不同形状的注射剂容器的密封。弹性体能使胶塞与较硬的容器口表面间保持紧密的接触，至今尚无其他材料有此优良的性质。它还可使塞子在被锋利的工具（如注射针）穿刺后仍保持其密封性，这只是弹性体的输药功能的一个例子。橡胶塞是注射剂或可供注射产品包装材料中的一个主要组成部分。典型的橡胶制品见图 1、图 2。

为说明橡胶优异的“保护和输药”功能，有必要介绍橡胶的组成与制备。



图 1 典型的橡胶制品（Abbott 公司供图）。A. 注射器推杆塞；B～D. 试管塞（sleeve stoppers）；E. 西林瓶塞；F. 输液袋注射位塞；G. 血清西林瓶塞；H. 冻干西林瓶塞

橡胶类物质

与其他所有的包装材料一样，橡胶不是惰性的。橡胶件中的每一种材料都可能释出到制剂中和（或）与制剂发生化学反应。制药和医用装置中的橡胶件的组成见表 1。与工业用途的主要性质要耐热、耐磨、耐溶剂的橡胶带、轮胎以及橡胶管相比，这些材料及用量明显不同。用于橡胶组成物的材料不局限于一种，可有两种弹性体、如异戊二烯和氯丁橡胶、两种着色剂（如二氧化钛和炭黑）。在注射剂胶塞中，弹性体是基本材料，与其他必要橡胶化合物物理或化学结合。



图 2 典型的注射器推杆橡胶塞（西氏公司供图）。A. 10mL 灭菌注射器用推杆塞；B. 灭菌预填充牙科用注射活塞；C. 1mL 灭菌空注射器活塞；D. Luer Tip 注射器盖

弹性体决定了橡胶化合物的大多数物理、化学性能。典型的弹性体有天然弹性体［如天然橡胶（NR），有时也称“绉胶”（crepe）］和合成弹性体［如丁基胶（氯丁、溴丁橡胶）、三元乙丙胶（EPDM）及丁苯胶（SBR）］。表 2 为注射剂用弹性体。

表 1 橡胶的组成物及其功能

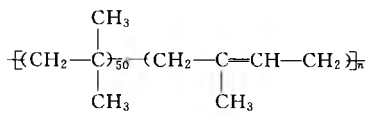
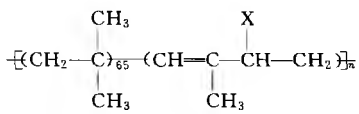
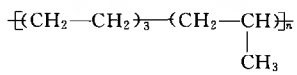
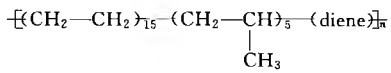
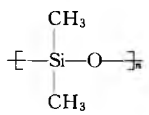
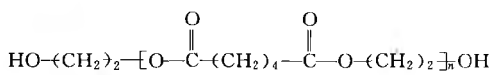
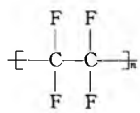
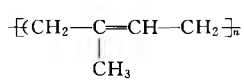
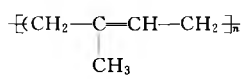
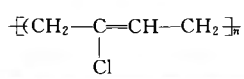
材料	功能
弹性体	基本材料
硫化剂	形成交联
硫化促进剂	影响类型和硫化速度
活化剂	提高促进剂的效率
抗氧剂	防老化
增塑剂	操作助剂
填料	改变物理性质
着色剂	着色

表 2 注射剂用包装材料中的常用弹性体

弹性体	用量/%	使用原因
丁基/卤丁基胶	～80	高阻氧、阻湿
天然/异戊二烯胶	～10	优良的物理性能，如再封性
三元乙丙胶（EPDM）	～5	良好的耐热性和表面润滑性
丁腈（NBR）/氯丁胶	～3	耐矿物油和植物油
丁苯胶（SBR）	～1	与异戊二烯/NR 或卤丁基胶混炼提高物理性能
硅胶	<1	耐热，氧、湿透过性高，价高

在医药工业中，天然橡胶和其合成类似物异戊二烯胶常用于要求有良好的物理强度或经多次穿刺仍能保持密封性能的产品上。但由于“乳胶敏感”的原因，天然胶的使用已锐减，有关此内容将于下文讨论。氯丁胶是卤取代的聚异戊二烯，适用于如矿物油或植物油等油基质的药物。SBR 及 NBR 也主要用于油基质药物，一般较少使用。丁基和卤丁基胶是主要的医药用弹性体，适用于多种产品，尤其是要阻氧和阻湿的，如大多数冻干制品和粉针以及一些避氧的液体制剂。EPDM 曾用作大容量静脉注射剂包装的塞，但不多。硅橡胶因透湿和透氧性较高且价格较高而较少使用。常用弹性体及其化学结构见表 3。

表 3 常用弹性体的化学结构[22]

常用名	化学名	化学结构
丁基胶	聚（异丁基-异戊二烯）	
卤丁基胶[1)]	卤代聚（异丁基-异戊二烯）	
乙烯-丙烯胶	聚（乙烯-丙烯）	
三元乙丙胶	聚（乙烯-丙烯-双烯）	
硅胶	聚二甲基硅	
聚氨酯胶	脂肪酸-乙二醇聚酯	
氟橡胶	聚四氟乙烯	
天然胶	顺-（1，4-聚异戊二烯）	
聚异戊二烯胶	顺-（1，4-聚异戊二烯）	
氯丁胶	聚氯丁烯	

续表

常用名	化学名	化学结构
丁苯胶	聚（丁二烯-苯乙烯）	$-[(CH_2-CH=CH-CH_2)_4-(CH_2-CH)]_n-$ （C_6H_5）
丁腈胶	聚（丁二烯-丙烯腈）	$-[(CH_2-CH=CH-CH_2)_3-(CH_2-CH)_2]_n-$ （CN）
聚丁二烯	聚丁二烯	$-(CH_2-CH=CH-CH_2)_n-$

1）X=Cl或Br。

硫化剂的作用是使弹性体分子链通过化学反应交联形成三维（3D）的网状结构，使橡胶产生所需的弹性。术语“硫化”是指在制造或模压过程中应用了热。常用硫化剂有硫磺、秋兰姆类、氧化锌、过氧化物、树脂及胺类。药用橡胶处方的特点是要求其“洁净”，即其所含的物质既不释出也不挥发到被包装的药物中。用硫磺硫化的橡胶因需要其他化学物质来提高其硫化效率，故不如用树脂、金属氧化物、过氧化物的硫化来得干净，制药工业及有关管理部门要求洁净的硫化系统已逐渐成为共识。

硫化促进剂用于提高硫化速率、减少硫化时间。促进剂并非催化剂，其本身也发生化学变化，在许多情况下也作硫化剂。硫磺硫化的促进剂有胺类、二硫代氨基甲酸盐、亚磺酰胺、噻唑类、秋兰姆类。有些促进剂因其反应性，可能形成毒性化合物，如硫基苯并噻唑（2-MCBT）可形成羟乙基巯基苯并噻唑，其残留物可能被抽提出。仲胺的促进剂可形成有毒的亚硝胺。

活化剂常用来提高促进剂的效率，一般为金属氧化物，如氧化锌或硬脂酸。

抗氧剂用于抗分解或防老化，化学机理上，抗氧剂保护橡胶链上一些敏感基团免受氧的攻击，抗氧剂都是一些化学物，如受阻酚和胺。不饱和的弹性体（如天然胶）应该使用抗氧剂以免表面龟裂和失去弹性。饱和弹性体（如硅橡胶和氟橡胶）本身能抗氧，故不必添加抗氧剂。某些抗氧剂，如抗臭氧剂，是专门设计用来在高浓度的臭氧环境中保护之用的。饱和与不饱和的弹性体见表4。

表4 饱和与不饱和弹性体

饱和弹性体	ASTM缩写	不饱和弹性体	ASTM缩写
丁基胶	IIR	天然胶	NR
卤丁基胶（氯或溴）	CIIR，BIIR	异戊二烯胶	IR
EPDM胶	EPDM	丁苯胶	SBR
硅橡胶	Q	丁腈胶	NBR
聚氨酯胶	U	氯丁胶	CR
氟弹性体	FKM	聚丁二烯胺	BR

用于橡胶化合物的增塑剂主要是帮助橡胶的混合或模制，软化经过硫化的橡胶，或增加其表面的润滑性。如液体石蜡、硅油、石蜡油和环烷烃油、苯二甲酸酯及有机磷酸酯类。硅油常用作注射器塞以使其在玻管或塑料管中能灵活移动，用于西林瓶塞则可减少其碎裂。

填充剂用来改变胶的性质（如硬度），改善胶的物理性质（如抗张强度）以及降低成本。有时胶中不加入填充剂，这种产品称作“口香糖胶”。常用的填充剂有陶土、滑石粉、氧化镁和二氧化硅，炭黑也用作填充剂以增加轮胎的抗热性，但在医药工业中仅少量用作着色剂。聚核芳香烃（polynuclear aromatic，PNA）也常用炭黑，但用于制药工业上时，采用很低的比例。

着色剂用于美观或功能性目的（如识别、标记制剂等），一般为无机盐、氧化物、炭黑或有机颜料等。典型的着色剂为炭黑、二氧化钛、氧化铁，这三种着色剂为白、黑、红三色，并由此可形成灰、粉红等。着色剂必须是化学纯的、稳定的，无毒和相对廉价。其他着色剂如酞菁类和群菁蓝用来着染蓝色和绿色，但它们的着色不如上述的着色剂牢固。

热固定型橡胶的处方见表5，按质量分数，弹性体和填充剂是主要材料，占90%以上，但其他少量的成分也是必要的，以保证橡胶有合适的化学、物理、毒理性能，达到包装的目的。例如，无硫化剂，则只是物理混合物，如同口香糖的黏度。再如，省去了很少量的着色剂，影响较小，只是所需的颜色看不到了。

表5 典型的热固定型橡胶的组成

材料	质量分数/%
氯丁胶（弹性体）	52.7
煅烧黏（填充剂）	39.4
石蜡油（增塑剂）	4.4
二氧化钛（着色剂）	1.1
炭黑（着色剂）	0.13
秋兰姆（硫化剂/促进剂）	0.14
氧化锌（活化剂）	1.6
2，6-二叔丁基-4-仲丁基酚（抗氧化剂）	0.53

橡胶中组成物的选择

许多材料能用于橡胶组成中，但只有少数能用于制药

工业。可用材料可参考美国的联邦法规（U. S Federal Regulation，CFR），由于 CFR 中没有关于药用材料的目录，故制药工业可参阅 CFR 中食品的指定条目，21 CFR 中可参考的章节如下：

• 175 章节　　非直接食品添加物。

• 177，178 章节——非直接的添加聚合物。

• 182，184，185 章节———一般认为安全的条目（generally regarded as safe，GRAS）。

• 177，2600 章节——供重复使用的橡胶物制品（章节列有主要药用橡胶处方用材料的目录）。

在参考 CFR 目录时要注意的是：首先，如果认为这些材料在药物和食物市场的销售有限，制造者常常不向 FDA 提供材料以便在 CFR 中列出，他们不想花费时间和增加费用；其次，某些材料，如 2-MCBT，虽然在目录中存在，但并不被强烈阻止使用，FDA 并不批准。最后，某些在 CFR 中列出的，如食物、药物和化妆品用颜料，但并不能用作药用橡胶的成分，其中许多水溶性颜料会从橡胶中析出，使药物着色。

制造商可以使用未在 CFR 目录中列出材料，只要能提供可接受的毒性资料供有关卫生部门审查。

橡胶的种类及其制造过程

注射剂胶塞由两种类型的弹性体或橡胶制成。热固型橡胶最为普遍，它在成型过程或模压过程中发生交联反应，聚合物的长链分子间产生链合形成有弹性的三维网状结构。如无交联反应，胶塞就如口香糖胶一般。口香糖是由未交联的橡胶与糖、香料、食品色素等混合而成。交联反应不可逆，一旦胶塞模压成型后就不能再模压成其他的形状和大小，再施以热压只会引起橡胶的分解或转化。

另一类型的橡胶是热塑型橡胶[1,2]，产品是类似于通常的由如聚乙烯、聚苯乙烯制备的硬塑料，但最后的产品与热固型橡胶一样是有弹性的。在该过程中无化学反应发生。热塑制造过程是：加热橡胶组成物使其液化，再灌注到模中，冷却模具，从模具中取出胶塞。该过程可逆，制成的产品可以再熔化制成不同形状、大小的塞。聚合物链之间的交联仅为物理的交织，形成的三维网状结构使热塑性弹性体有弹性。

目前，用于注射剂的热塑性塞的量小于 5%，主要是由于其不耐热，在蒸汽灭菌锅灭菌时易变形，这限制了它的使用。但是该塞较热固型塞有两个优点：首先，组成简单，不易与注射剂起反应；其次，制造方法简单，易于自动化生产。热塑性弹性体现已用于不需要热压灭菌的婴儿奶嘴和滴头。

药用胶塞由多个步骤来制造，每个阶段均需控制，全部过程都要验证，见表 6。

表 6　药用橡胶件的制造过程

	操作步骤	内容
1.	按质量标准测试原料	鉴别和纯度试验
2.	根据 DMF 文件的处方，称量批物料	精确到正常批重的±0.2%
3.	物料混合到均匀	在敞开或密闭混合器中混合
4.	取混匀的物料试制样品	测定混合物的硫化特性。对模压试验片测定硬度、比重、灰分、热裂解物的红外光谱、水提取物的紫外光谱
5.	预成型品的挤出、滚压或制粒	将混匀的物料压成块、条、薄片或粒料，以便易于操作
6.	将预成型的薄片放入模中或由进料机加入模中	
7.	压模、转模或注模	未硫化的混合物由热、压成型，聚合物链间发生化学反应而交联
8.	修整	将模压后的连接组件分成单个
9.	洗涤	清除微粒和润滑剂
10.	淋洗	用注射水冲洗，减少表面的内毒素和生物污染
11.	灭菌	仅对在预灭菌的制品
12.	QC 检测	鉴别、尺寸、物理、化学及生物学试验
13.	包装	将定量的制品放入包装袋中［一般用 PE 或呼吸袋（Tyvek®）］，封口，放入纸板箱供运输
14.	运输	批量的纸板箱堆集、包扎后由海、陆、空运输

药用胶塞有三种模压操作：压模法、注模法及转模法。选择何种方法要根据产品尺寸、精度来定。注模法所制的产品尺寸精度最好，但较压模法要贵。压模法和转模法常用于制备热固型胶塞，注模法特别用于热塑胶塞。压模法的过程见图 3。压模法的模板形状可由圆到长方形，直径 12～36in，可含纳 50～10 000 个塞。

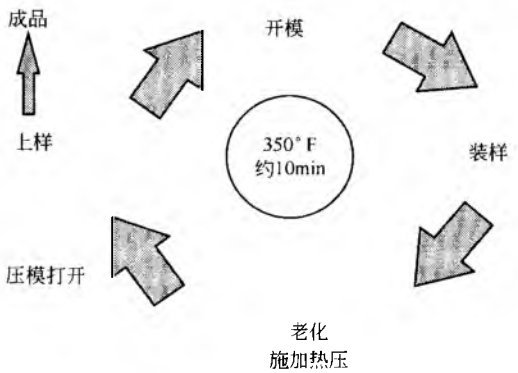


图 3　模压法制胶塞过程

目前已有“预处理”胶塞，有两种预处理塞的包装方式：

（1）灭菌后可用胶塞（RtS）。胶塞洗涤后，用注射水淋洗以减少内毒素水平和生物污染，用硅油润滑后，于100～10 000级环境中包入Tyvek®袋中，在使用前由药厂或医疗器械厂灭菌。如果用γ射线灭菌则可用PE袋。

（2）即可用胶塞（RtU）。预处理同RtS，但胶塞厂必须对胶塞的灭菌负责，而且为药厂或医疗器械厂所接受。该胶塞在用前不再做任何处理。

在使用RtS或RtU胶塞前，胶塞制造厂应该根据药品主文件（DMF）的操作、使用者的质量审计和FDA的批准说明仔细地进行验证。RtS和RtU发展很快，现在一些主要的胶塞制造厂均已上市RtS胶塞[3]，表7是药用胶塞厂的目录。

表7 药用橡胶包装材料厂

厂名	简称[1)]	地址	电话	网址或E-mail
Abbott Laboratories	AB	268E. Fourth Street, Ashaland, Oh 44805, USA	+419－282－5378	www. abbott. com
AL groub Wheaton	AL	618 Beam St., Salisbury, MD 21801, USA	+410－546－6441	www. alcanpackaging. com
Bryant Rubber Corp.	BR	1112 Lomita Blvd., Harbor City, CA 90710, USA	+310－530－2530	www. bryantrubber. com
Daikyo Seiko, Ltd.	DS	38－2, Sumida 3-Chome, Sumida-Ku, Tokyo 131, Japan	+81－3－3614－5461	
Helvoet Pharma	HP	Industrieterrein Kolmen 1519, B-3570 Alken, Belgium	+32－11－59－08－00	www. helvoetpharma. com
Itran-Tompkins Rubber Corp.	IT	375 Metuchen RD., South Plainfield, NJ 07080, USA	+908－754－8100	www. itranrubber. com
Kokoku Rrbber Inc.	KO	1450 E. American Lane, Zurich Towers, # 1545, Schaumburg, IL 60173, USA	+847－517－6770Ext 12	www. kokokurubber. com
Lexington Medical	LR	663 Bryant Blvd. Rock Hill, SC 29732. USA	+803－366－7036	
The Plasticoid Company	PL	249 High Street, Elkton, MD 21921, USA	+410－398--2800	www. plasticoid. com
Samsung Medical Rubber Co., Ltd.	SA	474－4, Mokne=Dong, Ansan-City, Kyunggi Province, Korea	+82－345－491－8071	www. smrco. co. kr
Seal Line S. p. A.	SL	Via Bernarde, 7, 36040 Montegaldella (VI), Italy	+39－0444/737221	Sealline@keycomm. it
Stelmi Trading International	ST	121, avenue Jean Mermoz, BP-93, F-93127 La Courneuve Cedex, France	+（33）－1－49－92－64－00	www. stelmi. com
West Pharmaceutical Services	WP	101 Gordon Drive, Lionville, PA-19341, USA	1－800－231－3000	www. westpharma. com

1）本简称限用于本章。

胶塞的灭菌

热、辐射及灭菌气体可用于胶塞的灭菌。但西林瓶塞常用热压法灭菌，当F_0值至少达到8min时是最可靠、最有效的灭菌法[4]。橡胶的热传导性差，在不锈钢容器中放入大量湿胶塞时，该灭菌过程需要认真地验证，要保证湿热能通过大量的胶塞，每个胶塞都能得到相当于8min的最小的F_0值。提高温度、延长加热时间（即使在中等的温度）会发生降解，使胶塞变黏。由于胶塞的外层先降解，

在使用湿热灭菌时必须特别注意，可以使用多孔托盘或减少投入胶塞的量，以减少加热时间和热量。121℃ 30～60min的加热对丁基胶和卤化丁基胶无影响，但天然胶和异戊二烯胶则不易耐受，不建议使用 121℃60min 以上的灭菌时间，除非已试验证明胶塞未发生明显降解，如未经试验，干热灭菌或干燥温度不建议高于 105℃。该试验包括检查表面裂纹，溶胀试验以测定硫化程度。功能试验（如再封性和穿刺落屑）和化学试验（如《美国药典》项目）以及提取物试验均需在灭菌试验的前后分别进行。

在常用压力锅灭菌条件下，湿热并不能除去热原，而胶塞必须是无热原的，可在灭菌前用注射用水淋洗。

环氧乙烷气体用于医用装置中弹性体的灭菌，但该气体易被橡胶吸收，可在灭菌后放置足够的时间，使环氧乙烷降低到容许的水平[5,6]。

用γ射线或电子束的辐射灭菌时，有些弹性体如丁基、氯丁基、溴丁基胶不能耐受高剂量的辐射，而天然胶、异戊二烯胶、氯丁胶及丁腈胶在辐照时不会发生降解[7,8]。穿透完整包装（纸箱或袋）的辐照灭菌要解决的是通过全部包装达到均匀、足够的灭菌辐射剂量，保证达到通常为10^{-6}的所需的灭菌水平（SAL），即使在最靠近辐射源的地方，弹性体也应不发生降解。有两种方法可选择：一种是设定剂量为 25 kGy，该剂量被认为可保证灭菌的；另一个是依照 AVSI/AAMI/ISO 11137：1994 标准，根据胶塞被污染的程度设定一个辐照剂量[9]。前法可彻底杀灭细菌，适用于耐辐照的橡胶；后法常常采用低的辐照剂量，对于不耐辐照的丁基或其他的橡胶较为关键。依照 AVSI/AAMI/ISO 标准，应按如下步骤进行：

（1）选择 SAL，通常为 10^{-6}；

（2）从连续的三批产品中取样，测定平均的生物污染程度；

（3）建立验证剂量，该剂量用 kGy 表示，可从标准的表 B.1 中查出．它给出 SAL 为 10^{-2}；

（4）验证所需的剂量，通过辐照 100 个样品并测定每一个样品的无菌性，如果不超过 2 个阳性，认为是可行的；

（5）根据标准的表 B.1 建立灭菌剂量；

（6）装满胶塞的海运容器上用剂量仪测量辐射时，制订容器中所受纳最大（D_{max}）和最小剂量（D_{min}）；

（7）目标物剂量的计算，是用灭菌剂量与 D_{max}/D_{min} 值相乘，目标物剂量较典型的是增加 6%或更多，作为剂量仪的误差以及增加灭菌保证。

检验和标准

1. 生产中的检验

该试验系采用未硫化的橡胶或标准试样来测定橡胶物品的如下性质：

（1）流变仪测定橡胶的硫化和硫化速率。橡胶件制造厂用未硫化的胶进行这些试验。观察在恒定温度下加热时间与胶黏度的关系，当时间增加时，硫化或交联的程度增加，黏度也增加。

（2）肖氏硬度计测定（Durometer）硬度。是用特定形状和厚度的标准试样来测定的[11]，常用肖氏单位（0～100单位）来代表相对硬度。大多数医用胶弹性体为 35～60，西林瓶胶塞为 40～50。如果产品有足够大的平表面和厚度，如 28～32min 的输液塞，则可直接测定其硬度。

（3）压缩变形。常用于测定弹性体塞在一定时间和温度下（通常为 24h，70℃）通常压缩 25%后的尺寸的回复性[12]，压缩变形值高的容易变形或在压缩后失去回至原状的弹性。低压缩变形值对胶塞、注射器塞甚为重要，因为要经热压灭菌，在使用前还要在压力下保持长时间仍不失其弹性，以保证与容器的密封性。压缩变形用规定尺寸的试样来进行。

（4）抗张强度、模量、伸长率。用来测定橡胶的强度[13]，用哑铃形试样在张力试验仪上进行。

（5）水蒸气透过性（WVT）和氧气透过性（O_2T）。常用薄层样片来测试，丁基胶和卤化丁基胶的 WVT 和 O_2T 很低，而天然胶和异戊二烯胶较高，硅胶更高。

2. 成品检测

成品的检测分成三类：常规的鉴别和质量控制试验；药典、标准和政府的测试；橡胶件和药物/医用装置申批所需的试验。在大多数情况下，一类试验是不够的。

2.1 鉴别和质量控制试验[14,15]

灰分是测定橡胶处方中的不挥发材料，如陶土和其他填充物；

比重是测定处方中填充物的类型和用量；

化合物裂解后的红外光谱是定性鉴别弹性体的种类（天然、丁基等）；

橡胶水提物的紫外光谱是鉴别和定量抗氧化剂、硫化剂、促进剂及其他有紫外吸收的物质；

在有机溶剂中的溶胀率用于测定与产品物理性质和功能有关的橡胶硫化或交联的程度和均匀度。

以上五种试验用于考察处方或适用性，作为质量控制既可是独立的，也可是综合的。

2.2 药典、标准和政府的测试

最权威的检测方案是《美国药典》（USP）[16]、《欧洲药典》（EP）[17]、《日本药局方》（JP）[18]、国际标准组织（ISO）[19]以及注射剂协会（PDA）[15,20]的方案。USP〈381〉中用于注射剂的胶塞要进行 5 个化学试验、2 个生物试验，胶塞必须符合生物学要求，但是没有化学试验的现行说明，USP 所有的化学试验常用水提取物进行，但是异丙醇和药物的赋形剂也可以。USP〈381〉的试验如下[21]：

浊度：胶塞提取物的澄清度用浊度仪与合适的标准物来测定。浊度是测定可由胶塞提取出来的不溶性物，主要受处方中成分的量和种类的影响，预处理过程如洗、抽提、

灭菌、硫化程度均会影响浊度。

还原物：可被提取并能被碘氧化的有机物质，同样受上述因素影响。

重金属：可被提取的铅及其他金属，如锌、镉，可用比色法或原子吸收光谱测定。

pH 变化：测定水可溶提取物的酸碱度。

总可提取物：在本试验中测定可溶的、不溶的、无机、有机（不挥发物）物在提取物中的总量，总可提取物是处方清洁度的指标。

生物试验：USP24 列出了 2 个标准的生物试验，即体外组织培养及体内血管注射和皮下注射试验，注射剂塞必须通过该两种试验才能符合 USP 要求。

有许多应用于 USP〈381〉的化学试验说明尚在讨论中，有可能会成为将来的 USP 的补充生效。JP、EP、ISO 有胶塞试验说明，这些项目与 USP 的比较见表 8。各国药典和标准组织并不采用同样的试验。因此，对特殊应用或向各国申请时要参考大量的文献来设计测试项目。四种的测试项目的比较中，日本对可提取物的限度是最严格的。USP、EP 及 ISO 的试验是基于水提取液的容量与胶塞的表面积，而 JP 不然，是基于提取物的容量对胶塞的质量。这种差异使同一材料所制小的胶塞较大的胶塞更难符合 JP 规定，也就是 13mm 的胶塞比 20mm 胶塞更难符合 JP，而 20mm 胶塞比 28mm 胶塞难以符合 JP。

表 8 胶塞的《美国药典》、《欧洲药典》、《日本药典》及 ISO 试验项目比较

法典	USP[1]	EP[2]	JP[3]	ISO[4]
试验类型和限度				
化学试验	Y	Y	Y	Y
生物试验	Y	N	Y	N
功能试验	N	N	N	Y
试验限度	Y（仅限生物试验）	Y	Y	Y
专门试验				
碱度/pH	Y	Y	Y	Y
氨	N	Y	N	Y
浊度	Y	Y	Y	Y
灰分	N	Y	N	Y
电导率	N	N	N	Y
胶塞密闭性	N	N	N	Y
尺寸说明	N	N	N	Y
弹性	N	Y	N	Y
可提取的 Zn	N	Y	Y	Y
泡沫	N	N	Y	N
裂纹	N	N	N	Y
卤化物	N	N	N	N
硬度	N	N	N	Y
重金属	Y	Y	N	Y
溶血	N	N	Y	N
皮下注射	Y	N	N	N
裂解红外	N	Y	N	Y
粒子	N	N	N	Y
穿刺力	N	N	N	Y
热原	N	N	Y	N
还原物	Y	Y	Y	Y
蒸发残渣	Y	Y	Y	Y
耐蒸汽性	N	N	N	Y
自封性	N	N	N	Y
储藏	N	N	N	Y
血管注射	Y	N	Y	N
组织培养	Y	N	N	N
总 Cd、Pb	N	N	Y	N
UV 吸收	N	Y	Y	Y
挥发硫	N	Y	N	Y

续表

1）见文献［16］，〈381〉部分；

2）见文献［3，1，12，17］；

3）见文献［18，49］；

4）见文献［19］，ISO8871，ISO8362-2，8362-5，ISO8536-2，8536-6。

虽然包装材料如西林瓶塞、注射器塞、针头保护帽可以符合所有的组织的标准，但这并不意味着也可用于专门的药物或装置中，为此要进行特别的评价，法规或标准测试只是材料用于药物或装置得到批准的必要但不充分条件。

2.3 用于弹性体评价和申报的专门试验

对橡胶元件有 3 个要求：

（1）与药物的相容性；

（2）符合功能的要求；

（3）提供胶塞的密闭性。

对于特殊的药物，许多因素影响橡胶件的选择，其中溶剂基质的种类最为重要，如果溶剂为水，则丁基橡胶、天然橡胶或 EPDM 胶都能用。假如为油，氯丁胶、丁腈胶较合适。橡胶的结构决定了胶塞的功能，冻干用胶塞必须防湿，故须用丁基处方，用于水基质的西林瓶塞可采用异戊二烯橡胶。

防腐剂会与橡胶反应，含有三氯叔丁醇的制剂建议用溴丁基橡胶而不用氯丁基橡胶。太低、太高的 pH 与 pH 5～8相比，橡胶的处方的影响更大。缓冲液也影响橡胶处方的选择，磷酸盐类在高 pH 时，不仅损坏橡胶，也腐蚀玻璃。

常用于橡胶的硫化和着色的二价离子（如钙、锌、铁）会影响对这些离子敏感的药物，如果需要防止湿气和氧气，保护药品，常选用丁基胶类。如果要采用有色的药用胶塞，胶塞厂一般选用红色氧化铁、黑色炭黑、二氧化钛。以此三色再调配成粉红和灰色，一般不采用有机颜料，原因是不耐热，而且较上述三种着色剂毒性大。

采用何种灭菌方法是筛选橡胶处方特别重要的，许多对热不稳定的药物（如蛋白质药物），应将胶塞、西林瓶以及药物三者分别灭菌，随后在无菌环境中进行包装。但FDA鼓励最终灭菌。此时，应将药物、西林瓶、胶塞完整包装，最后再用热灭菌，故对胶塞的要求更高。

辐射（^{60}Co）常用于多种胶件的灭菌，特别是用于装置的胶件，γ射线对胶塞的灭菌受弹性体、剂量及照射后时间的影响，天然胶及异戊二烯胶较丁基胶更能耐受辐射。

为了使药厂确保使用合适的胶塞，应对采用的包装进行试验，由胶塞供应商进行预筛选。此时药厂应提供药物的样品和资料，再用3～5种胶塞，并与惰性对照胶塞（覆氟膜或包膜胶塞）包装药物于西林瓶，扩大胶塞面积对容积比（正常比例的2～3倍），再将其储藏在较高和（或）较低的温度下，倒放、正放及侧放后进行试验。

必须用惰性的对照胶塞，因为药物可能对玻璃是稳定的，但对未包膜胶塞不稳定。这样就能判断使药物不稳定是胶塞还是玻璃容器。安瓿不适合在预筛选中作为对照，因为西林瓶的玻璃可能同安瓿玻璃不一样。表9摘要地列出了在选择胶塞作为药物（或装置）使用时重要的药物相容性因素。这些因素、功能及密封强度的要求可用以写成对弹性体的指标。包装工程师、胶塞厂面临的挑战是选择一种弹性体符合全部的要求，但是，事实上最多只能是满足全部的化学的和功能的平衡。例如，工程师会选择异戊二烯塞西林瓶，因为要用粗的针多次穿刺。异戊二烯塞有低的穿刺落屑和优良的再封性。此时工程师会牺牲一些产品有效期，因为异戊二烯阻氧性差。选择丁基胶由于它的良好的阻气性而能延长储藏期，但是穿刺落屑及再封性差。胶塞种类的选择始终是一个取舍平衡的过程，在决定橡胶部件前，要优先考虑药物/装置的需要。表10列出了弹性体的重要的物理、化学性质[22]。

表9 影响胶塞的药物相容性因素

液体或固体？
液体
1. 水——pH，防腐剂，缓冲助溶剂？
2. 油——植物油或矿物油？
固体
1. 冻干或粉末分装？
构型
需要阻隔 O_2、H_2O、CO_2？
药物的类型？
金属离子敏感性？
胶塞和包装的灭菌方法？
着色？

胶塞-药物相互作用有如下4种形式：

（1）吸附。药物浓集在胶塞或西林瓶的表面。

（2）吸收。药物扩散进胶塞的材料内。

（3）穿透。药物通过胶塞扩散到空气，或外面的物质潜移入容器。

（4）浸出。胶塞中成分释出到药物中。

上述4种反应都会发生，没有一个橡胶件对药物绝对惰性。在许多情况下，因反应程度很小，不能测出而已。但4种反应均以很低的速率在发生着。药物吸附对蛋白质是一个问题，许多生物工程技术的蛋白质产物易吸附于胶件表面而失活。其他药物，特别是强酸或强碱会与胶塞反应，使胶塞组分浸出。从胶塞释出的通常是低相对分子质量的弹性体碎片、金属离子、抗氧剂、增塑剂、润滑剂、硫化剂以及促进剂。浸出速率与相对重要的4种反应决定了胶塞的相容性或不相容性的程度。

1999年5月，FDA签发了修订过的“包装人用药物、生物制品的容器、胶塞系统的化学、制造和控制指导文件”，该文件列出了包装的信息必须在申请中上报[23]。该指导文件将此信息分4部分：

（1）概况——概述容器-胶塞系统，加上供应商、组成材料和生产后处理的信息。

（2）适用性——描述必须进行的测试，以确保对药物的保护作用，包装材料的安全性，材料与药物的相容性及组分的性能。

（3）质控——提供橡胶元件制造厂的出厂标准和药物包装厂的可接受标准，推荐提供监测弹性体组成一致性的方法，如提取液的高碘测试情况。

（4）稳定性——用所需的包装进行药物稳定性试验，与上述用水提取的法定试验不同，是以装有药物的包装容器进行的稳定性试验。

该指导文件提倡在橡胶提取物和合理使用DMF方面提供更多的信息。弹性体提取物的数据不仅是指由USP〈381〉试验中所得到的有关提取物的非特异性数据，而且在必要时还要对提取样本进行定性和定量。非特异性的提取物数据包括浊度、还原剂、重金属、pH变化及总提取物。较多类型的提取物均测定。特定提取物包括无机物（如锌、铅）及有机物（如PNA、硬脂酸、硝胺、二硫化四甲基秋兰姆或2，6-二叔丁基-4-仲丁基酚），这些研究可通过液相和气相色谱进行[24]。使用这些弹性体包装元件的药厂或器械厂应从供货者那里获得可提取物（可提取曲线）信息，包括试验方法。这些数据是将弹性体用不同pH（3、7、10）的水和有机溶剂（如异丙醇等）提取而得到。掌握这些信息就可注意药品中的可提取物。

机密的包装件的信息，如其组成物的处方，应放进DMF Ⅲ类中，可以让FDA在审查药物申报时（IND、NDA、ANDA或BLA）[25]同时评审其内容。药品生产商选择胶塞用于1个或几个药物包装或装置的申请，应他们的要求，令提交许多弹性体的文件。橡胶件的名称应与其精确的处方同时载明，该处方应说明特定的组分和用量。一

旦橡胶件列入进 DMF，在没有改变 DMF 以及通知所有客

表 10 弹性体的物理化学性质[1)2)]

性质	弹性体的常用名（化学名）								
	丁基/卤化丁基胶	天然/异戊二烯胶	氯丁胶	丁腈胶	硅胶	氟橡胶	聚氨酯胶	EPDM 胶	丁二烯胶
耐磨性	良	好	良	好	良	好	优	好	良
压液变形	差	优	好	好	差	好	优	好	好
穿刺落屑表现	良	优	好	良	差	N. D[3)]	优	良	良
阻气性	优	好	良	好	差	好	差	良	良
耐热性	优	好	好	好	优	优	差	很好	好
上机性	差	好	良	好	良	N. D	良	良	好
阻湿性	优	好	良	良	差	好	差	良	良
耐 O_3 性	优	差	好	良	优	优	好	好	良
耐辐射性	良～差	好	好	好	良、好	良、好	良	良	差
回弹力	差	优	好	好	好	良	好	好	好
货架寿命表现	好	良	好	良	优	优	优	优	良
耐溶剂性									
酸、稀酸	好	好	好	好	良	良	差	好	良
脂肪溶剂	差	差	好	并	差	优	优	好	差
碱、稀碱	好	好	好	好	好	好	差	好	良
动物油	优	差	好	优	好	优	优	良	良、差
芳香溶剂	好	好	差	好	差	优	差	良	差
氯化溶剂	差	差	差	差	差	优	好	差	差
矿物油	差	差	好	优	良	优	优	差	差
植物油	优	差	好	优	优	优	优	良	良、差
水	优	好	良	好	优	好	差	好	好

1）取自文献 [22]；

2）对标准的橡胶化合物而言，每个化合物也可能不同；

3）N. D 表示不能检出。

户前就不能再改变。因为 DMF 已经进入 FDA 并经审查。供货商改变 DMF 必须由制药厂再进行稳定性研究，这种变化不是经常发生。

最近的议题和发展

1. 胶乳敏感性

使用“乳胶”发生过敏反应，会导致医疗事故甚至死亡[26,27]，对此展开了医学的和法规的讨论。有天然和合成两类胶。一些合成胶或弹性体用于药物包装，见表 10。但是，仅有一种市售天然胶是从橡胶树 Hevea Brasiliensis 中提炼的。胶乳敏感性仅与天然胶有关，合成胶不会发生。但当与合成胶接触时也有另一类过敏反应发生。天然胶使用液体（乳胶）的及固体（干胶常称为绉胶）简称 SMR 和 SIR，这两种胶都会有一些特别蛋白质引起过敏，因此，医学及管理当局在讨论这两种天然胶的过敏性时使用乳胶这一术语。很早发表在文献中的胶乳反应是在接触液体乳胶制品而不是干胶时发现的，该产品常采用浸渍操作以制得薄壁产品，如手套、避孕套及导管。在图 1、图 2 中该产品并未列出，图中的产品均由干胶模压而成。许多研究报道了乳胶和干胶的致敏性质[28,29]，与干胶接触能否引起过敏反应尚在研究中[30]。

为避免胶乳过敏，出台了许多规则。在 1996 年 USP 建议对〈381〉部分进行修改，禁止使用天然胶胶塞[31]。但是，1997 年 4 月又取消了这一变更，而以胶塞制造厂应检查乳胶蛋白的限度来代替。根据 ASTM 试验[32]来测定天然胶中水溶性蛋白的量公布在 USP〈836〉中，然而未有标准和限度[33]。同时，FDA 公布了一条强制性规则，即在医用装置或药包材料中使用天然胶的要在标签上加以说明[34]，这条规则后又修正排除了药/药械和生物/药械的产品，如预灌封注射器的胶塞和柱塞[35]。由于天然胶的过敏危险的不确定性及规则的不明确性，天然胶在新药、新装

置方面的使用明显减少，而异戊二烯和 SBR 则增加。

2. 预处理胶塞

预处理胶塞有 RtS（即灭菌后可用）和 RtU（即可使用胶塞）两种，并正在药用包装中逐渐发展。关于这些产品的制造情况在本章的前面已有叙述。预处理目的是改善胶塞性质和降低总的处理成本，典型的 RtS 塞的特性如下：

（1）内毒素水平＜1Eu/塞。

（2）生物污染水平＜2cfu/塞。

（3）硅油水平 10～40μg/塞。

（4）可见微粒 25～50μm＜20 粒，50～100μm ＜2 粒，100μm 以上＜1 粒。

3. 覆膜和表面处理

尽管橡胶件的材料科学已有很大进展，但塞-药物的反应及表面润滑性还是包装工程的一个问题。胶塞的表面改性是为了符合 USP、EP、JP 以及 ISO 设定的标准的要求以及有关管理部门的希望。实际中将液体和固体应用于塞表面以减少相互作用和改善润滑性，已上市的覆包膜和表面处理胶塞见表 11[36]。这些处理显著地增加了胶塞的成本，但由于如下优点而可降低药品的总成本：

（1）增加润滑性，以增加操作速度。

（2）减少塞-药的相互作用，可用于一些不能用无覆膜胶塞的药物，并为另一些药物提供较好的质量和如较长的有效期。

（3）减少产品中的微粒数，以减少因可见微粒不合格而引起的退货。

表 11 市售覆膜胶塞和表面处理胶塞

产品名称	处理材料	处理目的	覆膜表面	供应商[1)]
Abboclad	氟膜	稳定性	塞表面	AB
B_2	硅油，聚合油	润滑	顶、颈或两面	WP
Coated Stopper	聚对亚苯二甲基膜	稳定性	全塞	IT
Deposition Coated	蒸气沉积膜	稳定性	全塞	AB
Flurotec	ETFE 膜	稳定性	顶部、颈或两面	WP、DS
Omniflex Plus	氟膜	稳定性	全塞	HP
R_2	聚合膜（非硅油）	润滑	全塞	ST
SAF	硅油（高黏度）	稳定性	全塞	HP
Slipcoat	等离子沉积聚合物	稳定性	全塞	AL

1）见表 7 供应商的信息。

4. 容器-胶塞的密封性

1999 年 5 月 FDA 关于容器密封系统的指导文件在“保护”一节中指出无菌性和容器的密封度作为重要参数。密封强度试验有物理和微生物法，然而历来仅仅使用灭菌试验法一种。在 1998 年 FDA 提出了一个在稳定性试验的方案中用合适的容器-塞的密封强度试验的指南，以确认该容器能保持无菌的持续能力，以取代灭菌试验[37]。Kirsch 等[38~41]发表了 4 篇系列文章，用质谱方法研究了氦的泄漏检测、微生物增殖及真空度降低以及三者之间的关系。FDA 也颁布了最新的技术报告，提供了评价药用包装完整性的指南。Guazzo 发表了一篇很好的综述文章，提出了现有方法的优点和局限性[43]。

总结

橡胶包装材料和装置元件是全部医用装置系统的一个重要部分。没有新的包装材料就不可能有现代的药物。药物开发的进展引发了新包装材料和输送系统的研究，同时，新的包装使新药物治疗成为可能。新型性、价格和合乎规范是 21 世纪的挑战。

参考文献

1. Williams, J. L. Medical Applications for Thermoplastic Elastomers Proceedings of the 1st International Conference on Thermoplastic Elastomer Markets and Technology, Schotland Business Research, Inc.; Princeton, NJ, 1988.
2. Naugle, D. G., Djiauw, L. K., Elastomerics 1989, 121, 23－32.
3. Manufacturers HP, ST, and WP, see Table 7 for contact information.
4. Avis, K. E., Smith, E. J., Elastomeric Parenteral Closures. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1992.
5. Anderson, S. R., Ethylene Oxide Residues in Medical Materials. Bull. Parent. Drug Assoc. 1973, 27 (2),

49－58.

6. Baan, E. Ethylene Oxide Adsorption and Desorption of Elastomers and Plastics, Bull. Parent. Drug Assoc. 1976, 30 (6), 299－305.
7. Effects of Gamma Irradiation on Elastomeric Closures, Technical Report No. 16. PDA. J. Parent. Sci. Technol. 1992, 52, S1－S13.
8. Langlade, V., Le Gall, P. A., Complying with the EC Note for Guidance for Gamma Irradiation: Validation of Rubber Closure Radiosterilization; PDA International Congress; Basel, Switzerland, 1994; 261－273.
9. Sterilization of Health Care Products—Requirements for Validation and Routine Control; Radiation Sterilization; ANSI/AAMI/ISO 1137: 1994, AAMI: Arlington, VA, 1994.
10. Morton, M. Ed. Rubber Technology, 2nd Ed.; Van Nostrand Reinhold: New York, 1973.
11. Standard Test Method for Rubber Properties: Durometer Hardness, ASTM D2240-97el, ASTM: West Conshohocken PA, 1999.
12. Standard Test Method for Rubber Properties in Compression, ASTM D 575-91 (1996), ASTM: West Conshohocken, PA, 1999.
13. Standard Test Method for Vulcanized Rubber and Thermoplastic Rubbers and Thermoplastic Elastomers—Tension, ASTM D 412-98a, ASTM: West Conshohocken, PA, 1999.
14. Standard Test Methods for Rubber Products—Chemical Analysis, ASTM D 297-93 (1998), ASTM: West Conshohocken, PA, 1999.
15. Elastomeric Closures: Evaluation of Significant Performance and Identity Characteristics, Technical Methods Bulletin No. 2, PDA, Bethesda, MD, 1981.
16. The United States Pharmacopeia 24/ National Formulary 19, The United States Pharmacopeial Convention, Inc.: Rockville, MD, 2000.
17. Rubber for Closures for Containers for Aqueous Parenteral Preparations and for Powders for Freeze-Dried Products. European Pharmacopoeia, Section 3.1.12 in 1999 Addendum European Pharmacopoeia Commission, Strasbourg, France, 1996.
18. Test for Rubber Closer for Aqueous Infusions, The Pharmacopoeia of Japan, Yakuji Nippo, Ltd. Section 49, Society of Japanese Pharmacopoeia, Tokyo, Japan, 1996.
19. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland. Some Important ISO Standards are 8362, Parts 2 & 5, Closures for Injection Vials; 8536, Parts 2 & 6, Closures for Infusion Bottles; and 8871, Part 1, Extractables from Elastomeric Parts for Parenterals. (ISO Standards are in Continual Revision; Contact ISO for Latest Revision.).
20. Extractables from Elastomeric Closures, Analytical Procedures for Functional Group Characterization/Identification. Technical Methods Bulletin No. 1, PDA, Bethesda, MD, 1980.
21. Elastomeric Closures for Injections; USP 〈381〉, USP 24. The United States Pharmacopeia Convention, Inc., Rockville, MD, 2000.
22. Smith, E. J., Nash, R. J. Elastomeric Closures for Parenterals. Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications; Avis, K. E., Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992; 1.
23. FDA Guidance for Industry, Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics—Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation, Food and Drug Administration, Rockville, MD, May 1999.
24. Milano, C. J., Bailey, L. C., Evaluation of Current Compendial Physicochemical Test Procedures for Pharmaceutical Elastomeric Closures and Development of an Improved HPLC Procedure, PDA. J. Pharm. Sci. Tech. 1999, 53, 202－210.
25. INDA, Investigational New Drug Application; NDA, New Drug Application; ANDA, Abbreviated New Drug Application; BLA, Biologic License Application.
26. Allergic Reaction to Latex Containing Medical Devices, FDA Medical Alert, MDA 91-1 1992, 1－2.
27. Smith, E. J., Natural Rubber/Latex Closures and Devices: The Issues; PDA Spring Meeting, San Diego, CA, 1997.
28. Yip, E., Turjanmaa, K., Makinen-Kiljunen, S., The "Nonallergenicity" of NR Dry Rubber Products, with Reference to Type 1 Protein Allergy, Rubber Developments 1995, 48, 48－52.
29. Slater, J. E., Latex Allergy, J. Allergy Clin. Immunol. 1994, 94, 139－149.
30. Hamilton, R. G., Allergenic Content of Elastomeric Closures, Private Communication. The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, 1999.
31. Elastomeric Closures for Injections, Pharmaceutical Forum 1996, 22 (5), 2886－2887, USP 〈381〉.
32. Standard Test Method for Analysis of Protein in Natural Rubber and Its Products, ASTM D 5712-95, ASTM, West Conshohocken, PA, 1999.
33. Natural Rubber—Water-Soluble Protein Content, Pharmacopoeial Forum 1997, 23 (5), 4681－4683, USP, 〈836〉.

34. 21 CFR Part 801 Natural Rubber-Containing Medical Devices, User Labeling, Fed. Reg. 1997, 62 (189), 51021－51030.
35. 21 CFR Part 8021, Amended Economic Analysis of Final Rule Requiring Use of Labeling on Natural Rubber Containing Devices, Fed. Reg. 1998, 63 (104), 29552－29590.
36. Smith, E. J. Coatings and Surface Treatments for Rubber Closures for Parenterals, PDA Annual Meeting: Washington, DC, 1999.
37. FDA Draft Guidance for Industry, Container and Closure Integrity Testing in Lieu of Sterility Testing as a Component of the Stability Protocol for Sterile Products, Food and Drug Administration: Rockville, MD, 1998.
38. Kirsch, L. E., Nguyen, L., Moeckly, C. S., Pharmaceutical Container/Closure Integrity I: Mass Spectrometry-Based Helium Leak Rate Detection for Rubber-Stoppered Glass Vials, PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51, 187－195.
39. Kirsch, L. E., Nguyen, L., Moeckly, C. S., Gerth, R. Pharmaceutical Container/Closure Integrity II: The Relationship Between Microbial Ingress and Helium Leak Rates in Rubber-Stoppered Glass Vials. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51, 195－202.
40. Kirsch, L. E., Nguyen, L., Gerth, R. Pharmaceutical Container/Closure Integrity III: Validation of the Helium Leak Rate Method for Rigid Pharmaceutical Containers. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1997, 51, 203－207.
41. Nguyen, L. T., Muangsiri, W., Schiere, R., Guazzo, D. M., Kirsch, L. E., Pharmaceutical Container/Closure Integrity IV: Development of an Indirect Correlation Between Vacuum Decay Leak Measurement and Microbial Ingress, PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1999, 53, 211－218.
42. Pharmaceutical Package Integrity, Technical Report No. 27. PDA J. Parent. Sci. Technol. 1998, 52 (S2). 1－48.
43. Guazzo, D. M., Current Approaches in Leak Testing Pharmaceutical Packages. PDA J. Pharm. Sci. Technol. 1996, 50, 378－385.

（侯惠民 译）

Z

制药工业中的工艺化学

Kumar G. Gadamasetti

ChemRx Advanced Technologies, Inc., San Francisco, California, U. S. A.

Ambarish K. Singh

The Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute, New Brunswick, New Jersey, U. S. A.

引言

在制药业中，一个候选药物的确定（临床前先导数据PLP，或早期的候选通知ECN），提交研究中的新药（IND）申请和新药申请（NDA）是新药上市前的重要里程碑。IND和NDA是企业在药物上市之前和食品药品管理局（FDA）互相沟通的事件。各个不同的部门在药物进一步的开发过程中扮演着各自的角色。药物或发现化学家识别新的候选药物以治疗或防止特定的医学适应证，而工艺化学家负责设计合成路线并提供数克的药物活性成分（API）或药物原料（BDS），供提交IND所要求的各种不同的研究和支持其他的开发项目。在IND批准后，化合物可以首次用于人体，作为Ⅰ期临床实验的一部分，也称为首次用于人体的试验（first-in-man，FIM）。IND的研究包括合成、动物毒理学，制剂和处方、药物和药品的稳定性和安全性，以及代谢和药物动力学。

临床开发是投入最大和资源消耗巨大的开发阶段。工艺研究和开发在缩短从候选药物确认至上市的总体时间方面具有重要作用。一般说来，一个药物的开发和上市需要10～15年，耗费超过4亿美元。进入开发的化合物的数字增大的变化（在20世纪90年代中期）对于负责供应这些新候选药物的化学家的影响巨大。工艺研究者与药物化学家的早期有效的互动，以及工艺开发的尽早创新有助于缩短IND和NDA时间。这些总时间的减少会使得药物提早进入市场[1]。

药物开发：化学家的观点

药物开发的简单流程见图1（未按时间比例）。

1. 从基因组学到先导开发候选药物

在过去的十多年间，制药工业的药物发现过程发生了模式变化。这些变化的驱动力，可以说，由多种因素导致，包括：

- 基因组学和功能基因组学的发展发现了人类疾病的新靶；
- 组合化学方法的发展增加了大量的化合物用于高通量筛选（HTS）；
- 用于迅速鉴别先导化合物的自动化和高通量筛选技术的发展。

虽然这些方法承诺为治疗多种疾病而提供大量的新药候选物供评价，但是这些化合物潜在功效的实现非常依赖于制药工业开发合适的生产工艺。

2. 从PLP开发候选物到IND和千克级实验室

IND研究需要相当多的化合物，实质上超过药物化学项目中所制备的量。通常，它成为工艺研究组的职责，在最短的时间内生产这些材料[2]。大部分主要的制药公司有千克级实验室设备，作为工艺研究实验室和中试工厂间的界面。制药工艺研究组以不同的方式组织。在一些公司中，工艺研究负责提供提交IND申请所需的BDS，包括开始的临床批生产。通常开始的供应由改进的药物化学合成和新的更适合于放大的合成工艺一起制备。在一些公司中，工

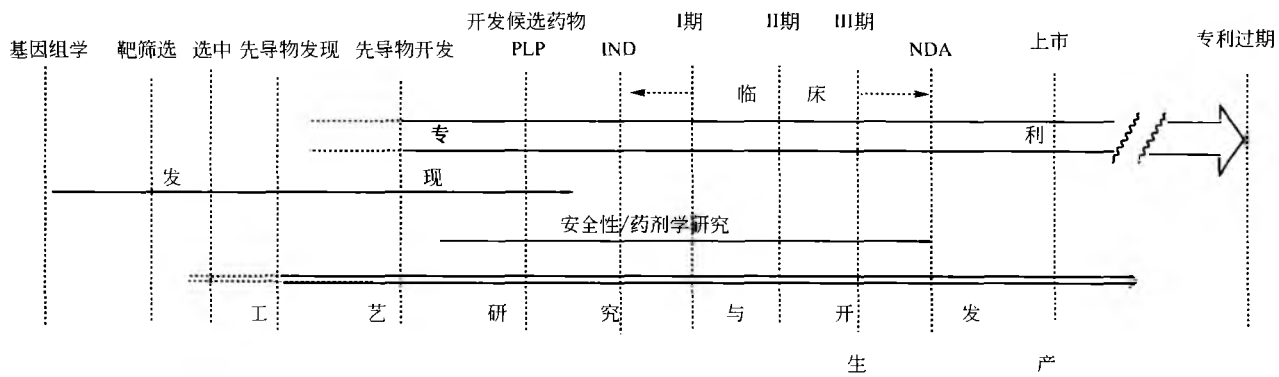


图1 药物开发事件的简单示意图。临床前：药物化学，组合化学，工艺化学；临床：工艺研究与生产操作

艺研究实验室和千克级实验室共同承担这份职责。常见的千克级实验室的放大工作是在玻璃器具内（22L）和小的反应器（50～100L）中进行。另外，工艺开发小组负责在中试生产中进一步的优化和放大，并过渡到生产。

3. 临床期间，NDA 和药品的上市

药物开发的临床阶段（Ⅰ期临床）从 IND 后开始，进行人体的临床试验。在Ⅰ期临床试验成功后，选择更多的患者进行药物的有效性试验，作为Ⅱ/Ⅲ期临床试验的一部分。一旦Ⅱ/Ⅲ期临床完成后，向 FDA 提交 NDA 申请。临床试验和 NDA 为药品上市的先决条件。

工艺研究及发展

药物发现化学家的目标是判定一个新的先导物用来治疗或预防一些特定的医学适应证，并确定一种合成策略以制备尽可能多的同类物。工艺化学的侧重点不同于常规的有机化学，它强调优化，明确控制条件使化学反应能放大。一个可行的工艺应该能可靠地生产出高纯度的产品，而不受专利的束缚。简而言之，工艺化学的科学家的全部精力专注于开发最短的、最廉价的、最安全的和环境最友好的工艺，以生产公斤级的药物原料。

制药工业中药物发现和开发领域的绝大多数科学家和技术人员将术语“工艺”误解为规模放大工作。

专注于制药工艺研究与开发的各种不同方面的科学家和工程师，非常愿意迎接大规模合成和纯化药物原料的挑战。工艺研究和工艺开发的流程用图 2 表示。

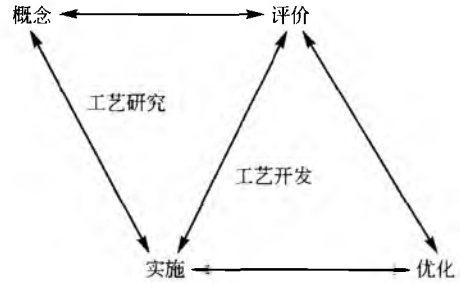


图 2　工艺研究与开发的流程

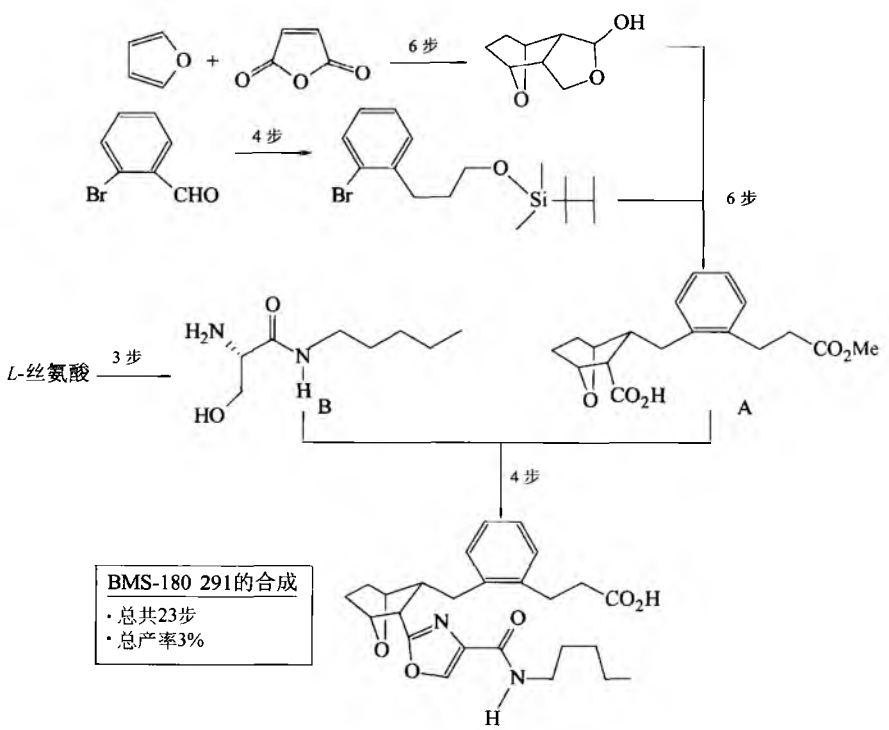
制药工业的工艺化学的目标是提供用文档记录的、可控的合成工艺，为支持开发项目和将来的药物活性成分的工业化生产服务。与完成这个目标有关的科学技术给个人或研究小组提出了巨大的挑战，以完成从毫克到吨级的药物供应。

1. 探索路线

随着候选药物的开发从发现进展到工艺，合成是可以实现的，但可能不能放大。探索路线在确定合成转换是安全的、实际的、放大的、高效的和环境友好的等方面具有重要作用，能促使最终实现生产合成工艺的转移。探索路线的工作之一是确定能够外包的重要中间体。

探索路线和路线优化的一个例子

方案 1　描述药物化学合成 BMS-180291（伊非曲班）的方法。

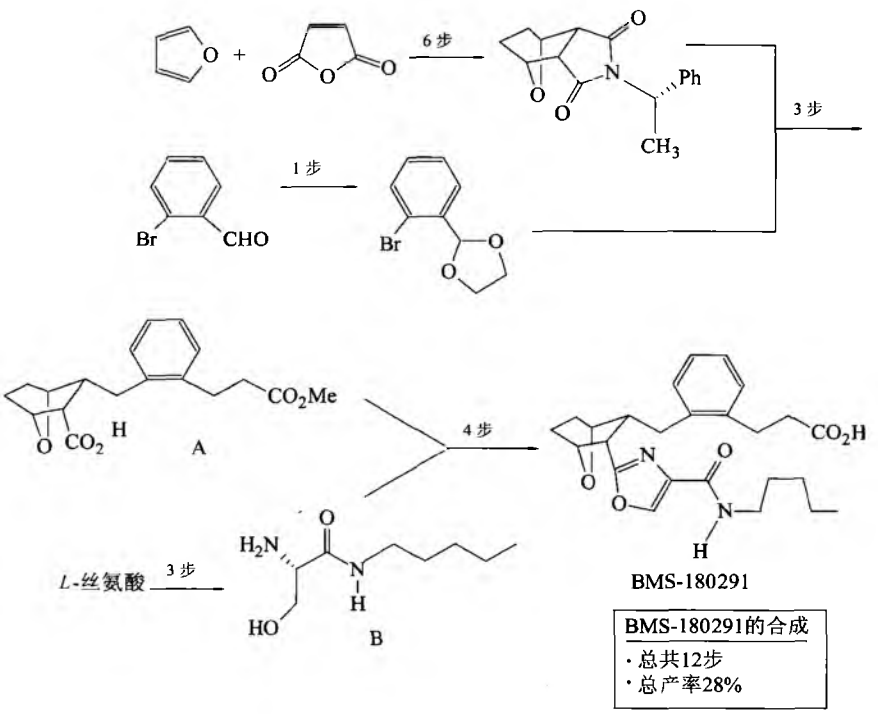


BMS-180291

方案 1　BMS-180291 原先的合成路线

Z

方案 2 提供合成 BMS-180 291 的完全不同的简化合成路线。主要酸酯中间物 A 的合成已经从 16 步大幅度减少至 4 步，产率增加 10 倍，从 5%到 52%。BMS-180291 的全合成路线事实上已经减少了一半（从23 步到 12 步），而产率从 3%增加到 28%（通过最长的反应路线）。



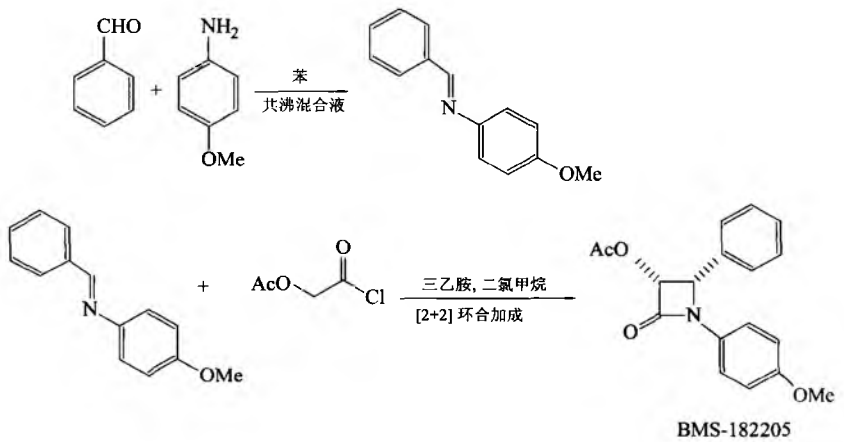
方案 2 BMS-180291 新的合成路线

2. 工艺开发和优化

当开发一个工艺时，人的安全是第一位的，其次是质量（产品的纯度和结晶度等）和产品的产率。除此之外，工艺化学家还要考虑下列各因素：

- 化学合成步骤的危害（人和设备安全）；
- 废物的产生（处置费用，环境的考虑）；
- 原材料、试剂和溶剂的费用和可获得性（货物的费用，资源的问题）；
- 反应放大时操作上的难易度（资金和劳动力的节省）；
- 产品分离的难易度（结晶性）；
- 合并多个化学反应步骤，减少中间分离的可能性（压缩生产流程，提高产率）。

一旦选择了一条路线，下一步是理解各步骤中各种因素相互作用对反应产率和质量的影响，确定每个因素的限度。这需要设计合适的实验，包括控制条件。这很重要，因为当反应规模扩大时，每个单元操作，像试药、溶剂的加料、蒸馏、相分离等，将花费更长的时间。当容器放大时，混合起着很重要的作用。由于不均匀的混合，不同部位温度和浓度的不同，可能会对反应产生不利的作用。



方案 3 BMS-182205 的合成

2.1 示例 1 BMS-182205 的工艺开发（方案 3）

问题：环境保护问题，人体的安全问题，废物管理问题，工艺效率低下。

紫杉醇侧链的合成第一步已经由 Holton 完成[4]。从工艺开发的立场看，该工艺的缺点是：

- 使用苯和二氯甲烷（人和环境的考虑）；
- 不能缩短反应时间（因为第一个反应在苯中进行，第二个反应在二氯甲烷中进行）；
- 产率低（在乙酸乙酯和己烷中结晶产率为 68%）；
- 产品为棕黑色（颜色）。

工艺改进：第一阶段，将苯用较安全的溶剂甲苯代替，后者也可以用于［2+2］环合反应，从而使两步反应合并为一步。然而，在实验期间加入二氯甲烷可以避免产品产生沉淀。产品从 2-丙醇中结晶析出，产率为 80%。开发的第一阶段取消了苯的使用，并将两个化学反应时间缩短。然而，溶剂从甲苯-二氯甲烷转换到 2-丙醇仍然需要结晶产品。改正后的产品颜色是深褐色的。

第二阶段，进一步的结晶研究表明产品可以从甲苯-庚烷和丙酮-水中结晶。产品在甲苯中的溶解性也有限。有了这些数据，两步反应均在甲苯中进行，与以前相同，但是在操作中不必加二氯甲烷，而改加盐酸水溶液以中和过量的三乙胺。然后加入庚烷从反应混合物中直接沉淀产物。粗湿产物从丙酮-水中结晶出，总产率为 80%，产物的颜色是棕色。这种改进的优点是可以省去好几步的萃取和回萃取步骤，缩短工艺时间和溶剂的消耗。

为了更进一步提高产率和改善产物颜色，要研究以下工艺因素：乙酰氧基乙酰氯的加成速率，反应温度和其他胺的影响。

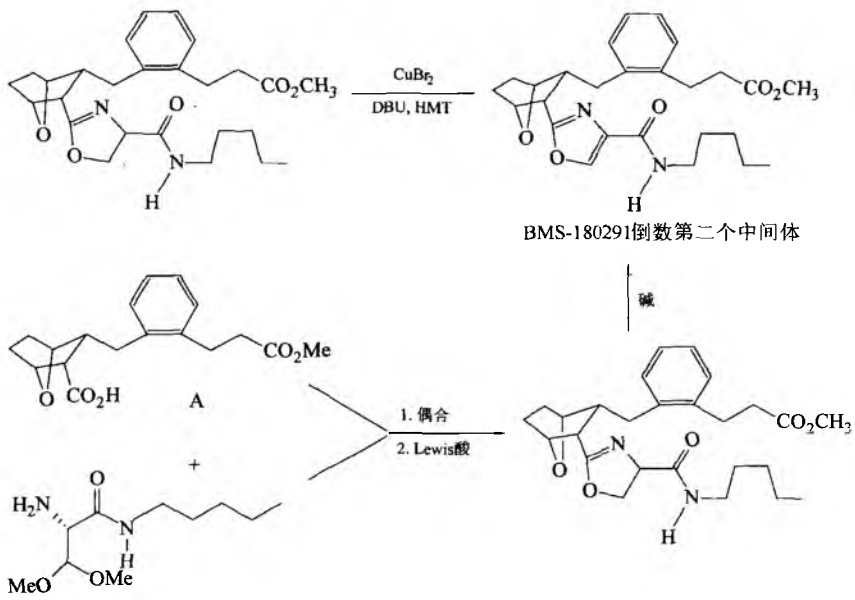
乙酰基氯化物的加成速率在 3℃、10℃和 17℃时反应时间优化为 2～3h。在 3℃反应时产物有最高的质量。两个胺——*N*-甲基吗啉（NMM）和二异丙基乙基胺（DIPEA），与三乙胺一起进行了评估。在有 NMM 时，反应在经 65%转变后停止。在三乙胺中为完成反应，加入乙酰氧基乙酰氯后需增加 3h。但是，在 DIPEA 中反应是瞬时的，产率高达 87%，并且产品不含棕色的杂质。

2.2 示例 2 BMS-180291 的工艺开发（方案 4）

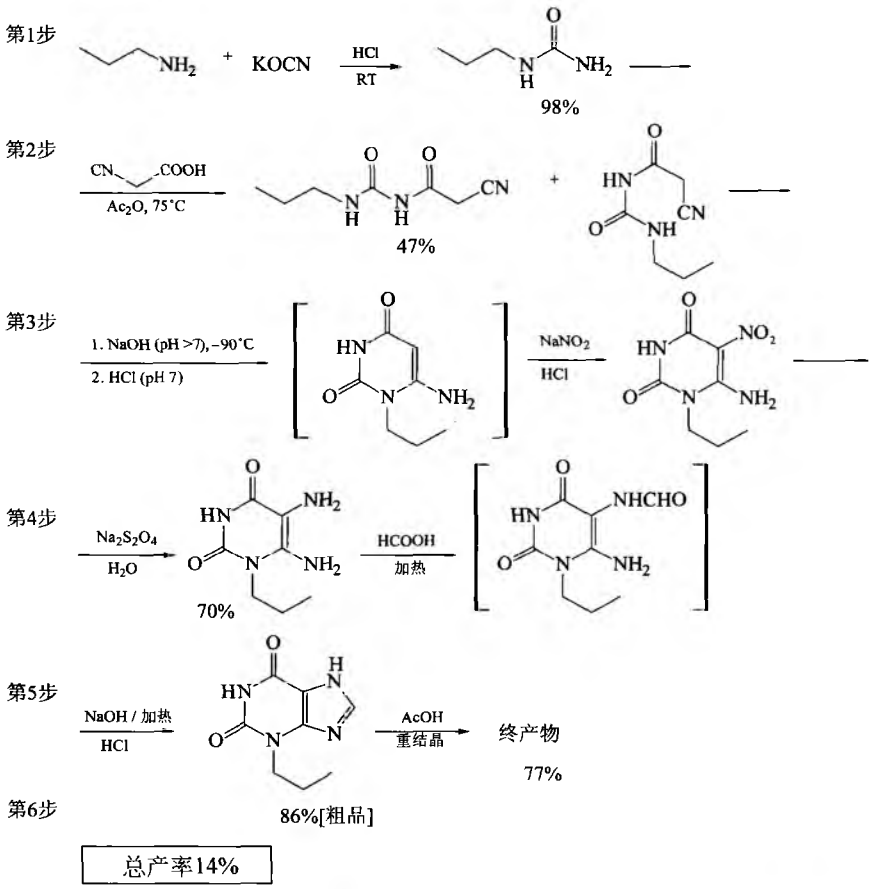
问题：环境因素，人体安全，物品费用[5]。

在前述的合成 BMS-180291 的改进中，因为对溴化铜废物的特别处理和生产中使用的六次甲基四胺（HMT）的危害，出于对环境考虑促使进一步完善合成工艺。出于对机械设备的考虑建议使用氧化形式的氨基酰氨 B（方案 4），这样可以避免后来的铜氧化。这的确是实现了。环合消除反应通过 Lewis 酸催化开始，由碱消除完成，得到 BMS-180291 合成的倒数第二步。除了不用溴化铜和 HMT，这种改进有助于进一步减少费用达 15%。

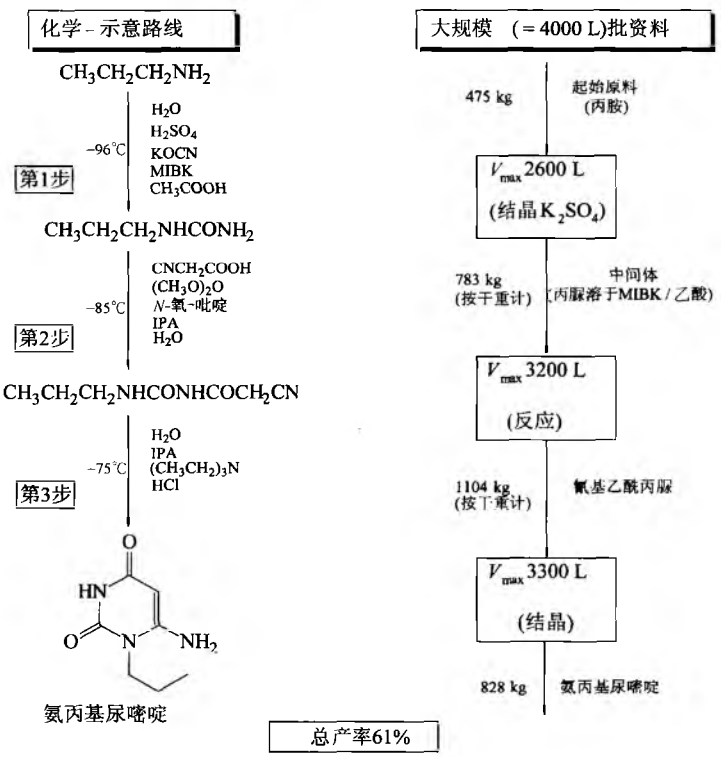
生产工艺，从药物化学到千克级的临床研究供应：瑞典 Astra 产品化学公司开发一种高度优化的精确地大规模合成噻吟支气管扩张药的工艺[6]。开始的生物学研究采用的是由方案 5 所示的药物化学路线生产，总产率约 14%，改进成环境友好的制造工艺后产率提高至约 51%（方案 6 和 7）。



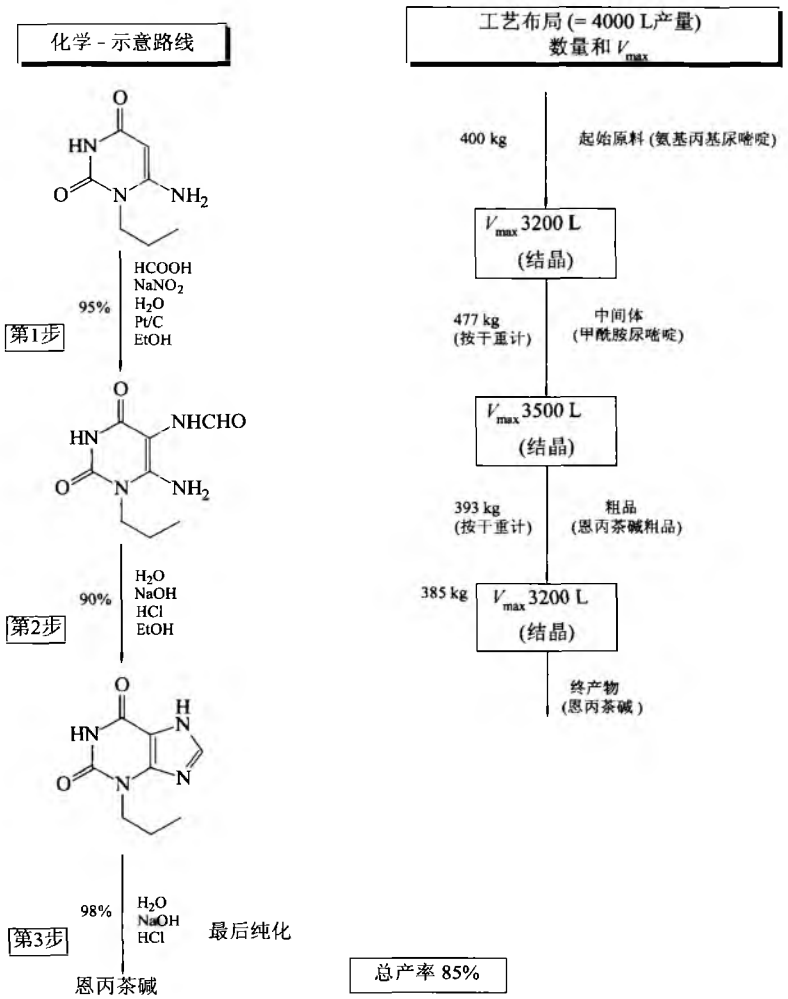
方案 4 BMS-180291 的工艺开发



方案 5　Astra 药物化学部门原先合成恩丙茶碱的路线



方案 6　Astra 的 6-氨基-1-丙基尿嘧啶的工业化工艺



方案 7　Astra 从 6-氨基-1-丙基尿嘧啶工业规模合成恩丙茶碱的路线

3. 工艺危险和安全

工艺安全已经是开发一条新合成路线的一部分，而且在典型的工艺开发实验室收集了越来越相关的数据[7]。现在许多开发工厂已经建立了特别的工艺安全部门，拥有最先进的设备和训练有素的人员，它有利于工艺化学家在考虑替代工艺路线时了解主反应和副反应的潜在危险，因而在开发和选择最后的工艺路线时要考虑反应的危险和其他因素。三个主要的参数决定安全的化学工艺的设计：

相关化学品的势能，理解在化学反应过程中的固有能（放热或吸热）；

依赖于温度、压力和浓度的反应速率（能量以热或压力形式释放）。在任何的危险工艺评估中，必须考虑在正常和异常操作时反应的速率（包括最坏的可能性），以便于设计一个固有安全的工艺；

采用设备管道以除去反应产生的任何热或压力。必须考虑规模放大的影响和要求。

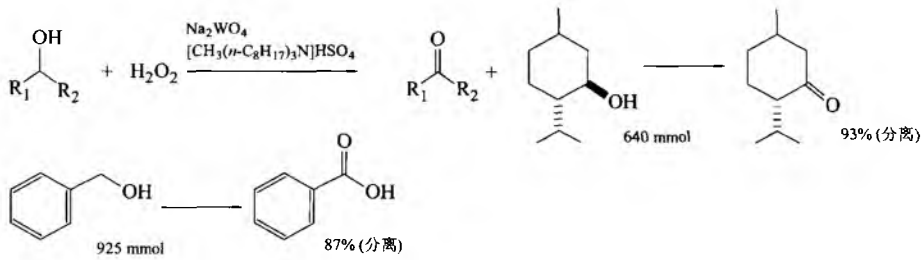
在大部分情形下，由开发化学家、工程师和安全人员组成的小组需要评估工艺，从进行反应到将废液储存于桶中的每一步相关危险性。该小组推荐进行一系列安全实验，而且从放热反应、粉状爆炸性、生成气体、反应混合物和反应废液与中试设备和储存桶的相容性中收集数据。设计并进行实验以确定发生失控反应的可能性，以及失控时分解的影响。基于工艺的安全评估，中试工厂采取适当的措施将危险消除或减到最小。在工艺研究的早期阶段（探索路线），只能获得少量的材料。在许多情况下，只能获得来自文献理论数据或计算的数据。进行筛选试验以辨别反应的危险性。当探索路线进入工艺开发阶段时，可以获得更多的材料，对反应危险可以进行更广泛地研究，以试验“假想”的情况。在工业化生产时，可以再评估化学危险，以说明改变生产要求或其他工艺改变的影响，例如使用不同来源的原材料。

有多种测试方法，样品量和条件各不相同。测试可以提供定量或定性的数据，数据包括反应开始温度、反应焓、瞬间产热与温度函数、最大温度及（或）作为失控后果的压力偏移，以及更多的数据对于工艺设计和操作使用。

Z

4. “绿色化学”：环境方面的考虑

涉及最终处理以消除污染物的研究称为“绿色化学”。正如哥伦比亚大学的 Ronald Breslow 指出[8]，关心环境与圣经的指令一样老，“不伤害地球，也不伤害海洋和树”。下面各例子说明环境良性化学的方式，描述的方案产率很高，水为副产物。Sato 等[9]开发了高效的、环境友好的方法来氧化伯醇和仲醇（方案 8）。日本科学家使用氢过氧化物作为氧化剂，硫酸季铵盐作为相转移催化剂，钨作为催化剂。



方案 8 Noyori 的醇氧化反应

5. 酶的干涉

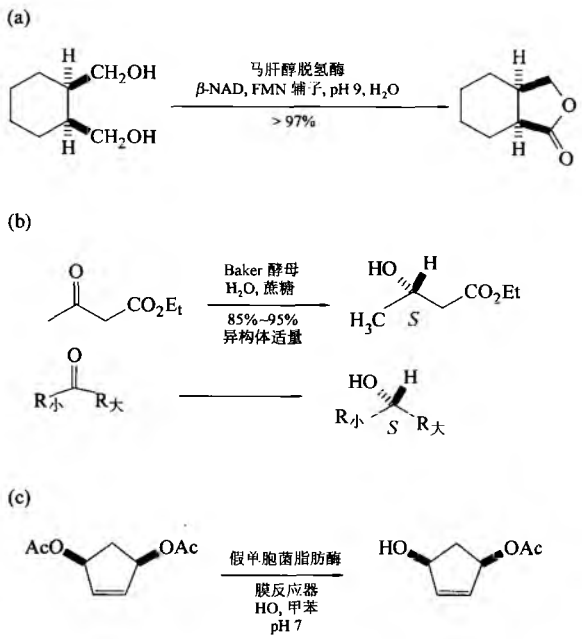
制药工业最近的趋势是将微生物技术（MT）或酶技术小组（ET）纳入工艺研究开发和生产部门。MT 技术小组的作用通常是提供药物（如普伐他汀、β-内酰胺药物等）、光学纯的骨架和用于随后合成项目的合成原料。

许多降血脂药物是采用酶工艺制备的，如 Pravachol、Zocor 和 Mevacor 等。已经上市数十年之久的青霉素类抗生素是采用酶工艺大量生产的。

酶催化作用

在有机合成中广泛使用的酶催化已经有大量文献[10~13]。酶代表一大类高效的化学催化剂，主要分为六类：水解酶（酰胺、酯、糖苷和内酯的水解）；异构酶（C—C 键转移，*E*/*Z* 异构化和消旋作用）；裂解酶（π 键加成）；氧化还原酶（可逆氧化和还原）；合成酶，C—C、C—N、C—O、C—S 和磷酸酯键的形成和断裂；转移酶，酰基、糖基或磷酰基团从一个分子到另外一个分子的移动。

方案 9 给出三个例子。



方案 9 酶介导的化学转移反应。(a) 立体选择性的酶氧化和内酯化；(b) Baker 酵母的酶还原和立体选择规则；(c) 酶的不对称水解

6. 实验设计（DOE）

理解工艺参数对化学的影响对于设计化学工艺是十分必要的[14]，有助于可靠地生产高质量和高产率的产品。这种理解从主副反应由实验决定比例的法则中得到。通过实验测定主副反应速率与温度、浓度、压力、溶剂效应、每个可替代的试剂的关系，以及对产率和杂质水平的影响，可以获得这种理解。工艺化学家通过每次改变一个参数来评价工艺参数的重要性。这种方法可能获得一般的化学知识，但效率低，很难提供用于将工艺参数按重要性排序的定量数据。此外工艺化学家经常面临着没有完全搞清化学机理就快速放大反应。借助统计设计方式，进行较少的实验就可以获得大量有用的信息。包括方差设计的统计方法是研究工艺的理想方法，特别是当基本原理不清楚或很复杂时。

方差实验由 2 种或 2 种以上的工艺参数同时变化的体系组成。对于一个二水平的实验来说，每个变量都是按标准模式指定一大一小两个值。实验按变量每个可能的组合进行。要得到有意义的结果，每个变量水平的选择很重要。如果选择的水平太接近，计算结果可能会被实验的噪声所淹没，选择的水平差异太大，可能会在不现实的条件下进行反应，如温度高于溶剂的沸点，或高于试剂和反应中间体的分解温度。

方差设计的数据分析涉及不同变量水平的实验响应比较。结果可以用不同的方式表示，以便了解同时改变两个或更多的工艺参数对反应产率和产品质量的影响。

7. 药物的晶型（最终形式）

药物的晶型[15]对制药工业是很重要的，不仅要注重产品化学组成，还要注重其性能。需要好的结晶性、好的生物利用度、满意的水中溶解性和溶解速率，以及满意的物理化学性质，如稳定性、吸湿性和流动性。选择适当的晶型（最终形式），需要从不同的溶剂系统中结晶药物，研究多晶型，筛选药物的各种盐（如果化学上可行）。

药物的化学、生物学和物理特性可以调节，并优化成盐的形式。表现出酸性或碱性的物质都能形成盐。相同化合物形成各种不同的盐时，因为它们对母体化合物的影响，会表现出不同的物理、化学和热力学的性质。表 1 列出 FDA 批准上市前 10 种最终药物形式，表 2 列出 FDA 没能批准的前 10 种药物的盐，但是在其他的国家可以使用。因为大多数药物是有机物，所以这里只考虑有机化合物的盐。每种盐使用的相对频率用百分数计算，基于阴离子或阳离子盐的总数。

表 1 FDA 批准的盐

阴离子	百分比	阳离子	百分比
盐酸盐	43	钠盐	62
硫酸盐	7.5	钾盐	11
溴化物	5	钙盐	10.5
氯化物	4	锌盐	3
酒石酸盐	3.5	镁盐	2.3

表 2 FDA 未批准的盐

阴离子	百分比	阳离子	百分比
甘油磷酸盐	0.88	哌嗪	0.98
氨基水杨酸盐	0.25	铋盐	0.98
天冬氨酸盐	0.25	二乙胺	0.33
硫酸氢盐	0.25	氨丁三醇	0.33
氢碘化盐	0.25	钡盐	0.33

已经发现盐会影响母体化合物的很多理化特性，如溶出度、溶解度和吸湿性。这些特性会依次影响药物的吸收、分布、代谢和消除。这些知识对于完全了解起效和持续时间、相对毒性、可能的用药途径是很必要的。例如，人们发现某些强碱性胆碱盐的毒性比母体化合物小得多，从而制备了水杨酸胆碱以减少口服水杨酸对胃肠道刺激。临床研究表明水杨酸胆碱的胃肠道刺激较小，高剂量能耐受，与阿司匹林相比对于患者的好处更多。

一种药物的化学和物理稳定性可以影响剂型的选择、生产和包装以及最终制剂的治疗效果。必须系统地测定热稳定性、不同的 pH 下溶液稳定性，药物本身和添加辅料均要测定，在选择最合适的盐和剂型时能提供必要的信息。

由于降解机制不同，不同的盐形式导致母体药物的稳定性不同。微溶盐用于混悬液处方中以减少溶液中药物的量及其分解。不同盐的吸湿性不同，影响在干燥状态下药物的稳定性。例如，青霉素 G 和其盐的稳定性已经进行了广泛的研究，主要因为这种药品的治疗重要性和它内在的不稳定特性。

青霉素溶液甚至冷藏时稳定性也不超过两周。然而，使用微溶的氨盐悬浮液（普鲁卡因和哈胺盐）以水为介质，可以制成“预制的”青霉素产品上市。

药物的结晶及其盐

在学术上，有机合成化学家很少考虑通过结晶分离一个化合物，除非需要单一晶体结构。大部分时间里，化学家是依靠柱色谱法纯化化合物。相反，在制药工业中更多地依靠结晶。例如，晶体的形态和粒子的大小对晶体溶液的过滤、结块的压缩性、药物稳定性和溶解性、堆密度和流动特性有直接的影响。从反应混合物中结晶是分离产物首选的方法。了解药物从中结晶的各种结晶体系能提供多晶型现象的信息，从而加速最终晶型的选择。在多晶型现象中，同种分子的两种晶态结构可以通过分子在晶格中堆积的形式来鉴别，每种晶型都有不同的物理和热力学特性。在 1998 年，Abbott 实验室撤回了它的艾滋病毒药物——利托那韦，因为出现了意想不到的新晶型，与标准品有着不同的溶解和吸收特性[16]。

结晶通常开始于两种类型的成核现象。第一种成核在亚微米水平形成分子簇，当浓度超过饱和浓度而形成过饱和状态，由结晶簇变成晶核；第二种成核是由主要成核形成的粒子或晶种引起的。有许多方法可以达到过饱和而开始结晶，如冷却、蒸发和添加非溶剂。

在药物开发的早期，只有很少量的原料可以用来进行结晶研究。在试管中的平行结晶技术筛选溶剂系统可以用少量原料进行。量很小时，不容易控制冷却的速率或者蒸发的速率来达到过饱和。然而，运用添加非溶剂来实现过饱和并联合使用晶种的方法，可以用最少量的化合物实现结晶体系的快速筛选。

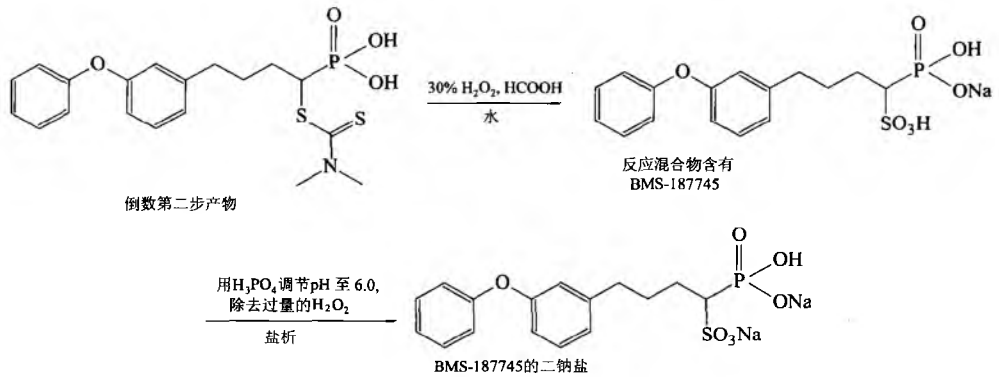
制备具有一个羧基或氨基官能团底物的盐，是分别将底物和反碱（或酸）溶解于合适的溶剂中，等摩尔比混合这两种溶液，并且在真空中除去溶剂得到固体。这个方法有两个明显的优点：首先，底物的组成在各结晶过程中是一样的；其次，这部分操作采用液体处理系统可以自动化进行。

下一步是测定底物（或其盐）在不同溶剂中的溶解性，也可以用一种自动化的液体处理系统来实现，取决于底物在水混溶溶剂（乙醇、丙酮、四氢呋喃等）中的溶解度和在水不混溶溶剂（乙酸乙酯、甲基正丁基醚、庚烷等）的溶解度，工艺化学家能确定一种或很多种用反溶剂可以使底物结晶的溶剂系统。

当从水反应混合物中分离高水溶性化合物盐时，就需要采用另外一种结晶技术。这种技术利用同离子效应，基于勒夏特利原理，即“如果在一个达到平衡的系统中施加一个压力，那么为了缓解压力系统将做出应答”。因此，在

水溶液中，化合物盐的溶解度可以通过大量加入溶解度更好的同离子以减小其溶解度。

BMS-187745 是一种动物口服有效的角鲨烯合成酶抑制剂和有效的降胆固醇剂。合成的最后一步是在水中用过氧化氢和甲酸氧化倒数第二步产物。选择二钠盐作为最终的晶型，因为其水溶性高，不能从水中用有机溶剂萃取。然而，由于采用了同离子效应，二钠盐可以容易地从水中析出。为此，在次磷酸反应结束之后，反应混合物的 pH 被调到需要范围 6.05～6.25（BMS-187745 二钠盐的 p*K*a 是 6）。在该 pH 范围内，甲酸钠盐、次磷酸钠盐和磷酸钠盐的高浓度可以降低 BMS-187745 二钠盐的溶解并影响结晶（方案 10）。



方案 10　BMS-187745 通过盐析结晶

8. 工艺化学实验室的自动化

自从 20 世纪 60 年代以来，自动化已经成为改进生产力的主要工具[17～21]。自动化技术已经引进到中试车间来改进质量，增加安全性，而且使工作流程化。通过缩短输送时间、降低单元费用、减少库存、减少产品失败，可以节约大量的费用。由于将药品上市的费用急剧增加，公司在极大的压力之下要缩短研发时间。制药工业在其药物发现中已经拥有了新技术来增加产出、产生更精确的数据，并确保准确性。

药物发现科学家已经采用一些工具，如组合化学合成仪、HTS 的机械人系统、计算化学的软件包、分子建模，以及设计实验以寻找先导化合物（“选中数”）。如“选中数”增加，工艺 R&D 有可能变成瓶颈。可以进入工艺开发的化合物数量受到可以对这些化合物进行研究的工艺化学家数量的限制。没有一些自动工艺开发机器以提高产量，就不太可能评估所有潜在的“选中样”。HTS 的结果要求高通量的开发（HTD）工具。各家公司，过去可能仅仅满足药物发现科学家的需要，现在正在发明和研制可供工艺化学家平行进行许多实验的工具。商品化的 HTD 工具描述如下。

8.1　平行反应

Charybdis 技术：在 Charybdis 反应器中，设计了多阱反应阵列用于溶液和固相合成。阱的体积 2～10mL，压力达到 207kPa（30psi），温度为－80～＋180℃。

Quest 合成技术：Quest 210.设计用于 5 或 10mL 的反应器中进行多达 20 个反应。20 个反应器均可以有效地搅拌、加热或冷却，而且可以保持在惰性气体下。Quest 205 设计用来进行较大量的合成，由两组 5 个 100mL 的反应器组成。

Argonaut 技术：Endeavor™ 使平行反应在压力可达 3.3MPa（33atm）和温度高达 200℃下进行。8 个反应器（工作体积是 15mL）可以独立控制温度、压力和气体的输送。

Surveryor™：适合平行工艺开展和优化，可在线取样并整合 HPLC 分析，它使用 10 个反应器（工作体积为15～45mL），分别控制反应温度－40～＋150℃，并可以回流。试剂的加样、反应参数控制、取样和 HPLC 进样都由软件控制。

Bohdan 自动化公司：工艺开发工作站能运行 12 个独立的反应器，反应体积 25mL。下列各项操作自动地进行：试剂的准备和添加、单独加热和冷却、混合、反应取品和中断熄反应、并传运到可选配的 HPLC 或 FTIR 模块。

8.2　平行纯化

Isco 公司：CombiFlash™ Sg 100c 系统适用于 10～35g 原料的纯化。它提供以时间或峰值为基础的样品收集，在紫外线检测，用两种溶剂进行线性和（或）梯度洗脱，流速为 10～100mL/min。

CombiFlash Si 10x 系统可以同时纯化 10 个样品，用两种溶剂进行线性和（或）梯度洗脱，总流速为 10～100mL/min。

8.3　自动样品处理和分析

Bohdan 自动化公司：Balance Automator™ 提供一种对人工称量有效的替代方式，减少错误和操作员厌烦情绪，而且每小时可以处理 120 份样品。用可以互换的部件，这一系统可以适应不同容器大小和天平。

Gilson：Gilson 215 液体处理器是一个通用设备，大容

量、隔膜穿透液体处理器提供安全有效的转移。它帮助把样品转移到其他的分析系统，或者直接将样品注射到在线高效液相系统中。

外包

外包涵盖很宽领域的服务[22]。它能减少额外的职员、设备及仪器。随着药品合成越来越复杂，未来几十年外包在药品的发现和开发中有望持续显著地增长。其动态的增加归因于许多因素，包括正在进行的制药工业的合并和紧缩的劳动力市场。随着大型公司的合并，它们寻求协作造成了研发人员的外流。回首看，公司需要较少的内部资源完成更多的工作，从而促进了外包。紧缩的劳动力市场使得招募和保留工作人员越来越困难，许多公司开始转向外包来获得高训练素质的科学家。制药公司也在寻找外包伙伴的长期合作关系。

FDA 指南及法规问题

药品制备的指南（依照 GLP 和 cGMP）法规问题在 FDA 药品评估和研究中心有详细的描述[23]。该完整小节专注于 API 和 GMP。有关详情读者可进一步阅读参考文献。

参 考 文 献

1. Picano, G. P.; Wheelwright, S. C. The New Logic of High-TechR&D. Harvard Business Review (Sept./Oct. 1995), 93.
2. Gadamasetti, K. G., Ed.; Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
3. Mueller, R. H. A Practical Synthesis of Ifetroban Sodium. Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry; Gadamasetti, K. G., Ed.; Chap. 3; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 37—55.
4. Holton, R. A. Method for Preparation of Taxol. Eur. Pat. Appl. 1990.
5. Swaminathan, S.; Singh, A. K.; et al. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 4769.
6. Federsel, H.-J.; Jakupovic, E. A Highly Optimized and Concise Large Scale Synthesis of Purive Bronchodilator. Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry; Gadamasetti, K. G., Ed.; Chap. 6; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 91—106.
7. Guidelines for Chemical Reactivity Evaluation and Application to Process Design; Center for Chemical Process Safety of the American Institute of Chemical Engineers: New York, 1995.
8. Breslow, R. The Greening Chemistry. Chem. & Eng. News Aug., 1996.
9. Sato, K.; Akoki, M.; Takagi, J.; Noyori, R. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 12386.
10. Azerad, R. Bull. Soc. Chim. Fr. 1995, 132, 17.
11. Theil, F. Chem. Rev. 1995, 95, 2203.
12. Wong, C.-H.; Whitesides, G. M. Enzymes in Synthetic Organic Chemistry; Pergamon: Oxford, 1994.
13. Collins, A. N., Sheldrake, G. N., Crosby, J., Eds. Chirality in Industry; John Wiley & Sons: New York, 1992, 1997; I and II.
14. Pilipauskas, D. R. Using Factorial Experiments in the Development of Process Chemistry. Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry; Gadamasetti, K. G., Ed.; Chap. 22; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1999; 411—428.
15. Berge, S. M.; Bighley, L. D.; Monkhouse, D. C. Pharmaceutical Salts. J. Pharm. Sci. 1977, 66 (1), 1.
16. Blagden, N.; Davey, R. Polymorphs Take Shape. Chem. In Brit. March 1999, 44.
17. Owen, M.; Dewitt, S. Laboratory Automation in Chemical Development. Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry; Gadamasetti, K. G., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999; 429—455.
18. Conner, K. The Drive to Improve the Bottom Line. Today's Chemist at Work Nov 1999, 29.
19. Sullivan, M. Automation Accelerates Synthesis. Today's Chemist at Work Sept 1999, 48.
20. Studt, T. Raising the Bar on Combinatorial Discovery. Drug Discovery Development Jan/Feb 2000, 24.
21. Harness, J. R. Automated Sample Handling Supports Synthesis and Screening. Drug Discovery & Development Jan 1999, 69.
22. Waring, J. Strategic Outsourcing Fuels Research Growth. Drug Discovery & Development Jan/Feb 2000, 40.
23. CDER web site: http://www.fda.gov/cder. A Complete section is Dedicated to the Internationally Harmonised Guide for Active Pharmaceutical Ingredients (API) and Good Manufacturing Practice (GMP); Washington, Sept 1997.

（王国平　赵惠清　译）

Z

制药工业中的滚压制粒技术

Ronald W. Miller
Bristol-Myers Squibb, Global Pharmaceutical Technologies, New Brunswick, New Jersey, U. S. A.
Paul J. Sheskey
The Dow Chemical Company, Midland, Michigan, U. S. A.

引言

制药工业中使用制粒的方法使细小粉末变大变压实，成为大颗粒，这样就提高了粉末的流动性，从而使原料可以有效和高效地进一步加工成固体剂型。药剂中制粒方法有两种：湿法制粒和干法制粒。湿法制粒的方法在文献中有广泛介绍，例如，本书“制粒”部分就专门描述了湿法制粒[1]。

干法制粒的过程中没有使用水分或热将粉末加工成压实的颗粒。在制药工业中，有两种干法制粒的方法：压大片法和滚压法。对于制剂的干法整粒技术，文献中描述的很少。它在企业中的应用要追溯到 20 世纪 40 年代，到目前为止已经使用了五、六十年了。然而，只是由于近 20 年来制药工业对于找寻新的有效活性药物分子的研究的增加，才使得这一技术得到较多的应用。这些新的活性分子由于其化学结构的敏感性，不能够简单地用水分或热的制粒步骤来加工。因此，在 21 世纪，开发新的适用于制备化学性质敏感的药物固体制剂的需求促使干法制粒工艺技术得以发展。

背景

简要地说，在干法制粒过程中，粉末颗粒在高压下发生聚集，通常为 30～70bar（非法定单位，1bar＝10^5Pa）的压力。颗粒物质之所以能在高压下聚集是因为固体表面直接接触形成了黏合力。高压能够提高表面间的接触区域，也就能提高黏合力。有时候也需要加入黏合剂来提供更大的黏合力。在本章后面部分，会有更多有关这类用于滚压制剂中的辅料介绍，其能够辅助制剂的制备。

在制剂工业中，20 世纪 50 年代到 70 年代期间，干法制粒盛行一种被称为“压制大片”工艺。该过程是把粉末送入到一个大的压片机（如 Stoke D3 型）中，粉末在此被压制成大的片或块，通常为直径 1 英寸，片剂的厚度约 0.25 英寸。大片或块随后被整粒机粉碎，得到大小分布合适的颗粒，然后被进一步加工成胶囊剂、口服混悬液剂的粉末，袋泡剂或者片剂。这个压制大片的工艺现在只有很少的企业在使用，且仅用于旧的药物剂型或者非处方药制剂的生产。今天，在美国、西欧、澳大利亚以及亚洲的部分地方，在新开发的制剂中都不再使用这种干法制粒的设备了。这种压制大片的加工过程对于 21 世纪的现代药剂技术来说，已经是过去的遗物了，滚压技术才是代表未来干法制粒的关键技术。

这里简要介绍压制大片工艺的一些特征，使得读者能够全面了解其技术信息。压制大片的工艺受到原料的加料性质的影响，如粉末黏结性、密度、流动性以及粉末颗径分布。压片机器的设计特征，例如机器类型、加料斗、加料框架、压模直径和工具特征、压制速度以及压力等也会影响加工工艺和成品的性质。概括地说，压制大片的关键工艺操作是在大片成型的动态过程中，保持粉末充填到模圈中的质量一致。这就保证了能够最大程度地生产均匀的粉末片，以及后来压实的颗粒。这种压制-成片的设置是将压制大片生产能力最大化和此过程中涉及的加料斗和压模粉末流动问题最小化的关键。压制大片通常在 4～6 t 的水压下进行，速度为每分钟转塔旋转 10～30 圈。这个过程所需的机器吨位、转塔转速、滚轮驻留时间等取决于粉末混合的物理性质、工具构造、机器部件以及最后的大片规格。典型的压制机器的产量为 30～50kg/h，没有安装现代化的仪表装置来控制它的性能。制剂工业中的压制大片技术仍有许多不足（表 1）。

表 1 压制大片的缺点[2]

单批次的加工	过多的空气和噪声污染
频繁地维护和转场	增加了存储容器的使用
工艺控制差	增加了生产空间的需求
规模不经济	增加了后勤支持
每小时的生产量低	生产 1kg 大片比生产 1kg 滚压制物需要更多的能量和时间

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供。

滚压技术的优点

本节将介绍滚压技术的主要内容。与压制大片技术不同，滚压技术非常适合干法制粒聚集物，符合现代活性药物成分开发的趋势，同时也符合现代药厂的设计。世界范围内药品生产规模的扩大和高加工速度的要求以及药物生产质量管理规范（GMP）水平的提高，使得干法制粒加工的步骤必须变得越来越少。而这一要求可以通过仪表化滚压机实现自动操作和控制加工过程来实现。滚压技术在制

剂工业中能提供有竞争力的成本控制，能提供安全、高质量的产品。滚压技术在制剂工业中的优势见表 2。

表 2 滚压的优点[2]

简化工艺	使用更少的原材料
消除水和溶剂的制粒	消除水引起的降解
增加粉末流动性	缩短工时
使用最少的能量进行操作	防止颗粒离析
需要更少的人工来操作	实现连续生产
改善药物剂量的控制	提高含量均匀性
重复生产的颗粒密度保持一致	不需要防爆的房间和设备
生产出具有良好崩解性的片剂和胶囊	生产出可工艺放大的干品

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供。

由于其在工业和制剂中的重要性，上述特征中的一些被认为是最好的技术实践和特征，并由 Miller 和 Sheskey 报导[3]。总之，今天的滚压技术提供了一个连续的加工过程，与旧的压制大片加工技术相比有更好的工艺控制、生产效率以及环境保护能力。

前言：粉末制粒和压制

粉末制粒是把粉末或小颗粒变大的一个过程。制粒的定义包括一系列不同增大粒径的方法，可以分为干法或湿法。湿法以合适的液体聚集小的粉末颗粒成为大块。湿料随后干燥和整粒，用于下游工序的需要。湿法制粒的方法是药品生产中，尤其是现代药物生产中最常用的粉末制粒技术。

Kristensen 和 Schaefer 解释了生产药物制剂时要将粉末制粒的主要理由[1]：

- 提高粉末的流动性以便于剂型充填和压制加工；
- 减少湿法制粒引起的降解，提高产品稳定性；
- 阻止活性药物成分分层；
- 降低松体积，以方便储存和运输；
- 减少可能的环境和安全危害性。

Kristensen 和 Schaefer 在《制药技术百科全书》中撰写的有关章节提供了大量的关于制粒方法的参考文献 [1]：Capes[4,5]、Pietsch[6,7]、Sherrington 和 Oliver[8]、Kapur[9]。其他也引用了湿法制粒的技术：Kristensen 和 Schaefer[10]、Lindberg[11]、Fonner、Anderson 和 Banker[12]、Anderson、Banker 和 Peck[13] 以及 Ghebre-Sellassie[14]。

压制理论

干的聚集物的结合力对于下游生产过程中涉及的制粒性质，如颗粒完整性、流动性、易碎性、密度、可压制性和大小有着十分重要的作用[1]。Rumf 及其合作者认为发生于干法制粒中的结合力是范德华力、机械交联的综合表现，是新生表面和固体桥之间的键的再结合（由压制过程中部分熔化和凝固形成）[15]。

《药物制粒技术手册》中提出了与滚压有关的颗粒键合的通用理论[2]。干法制粒的过程依赖于颗粒之间的键结。键的形成表现为不同的步骤，通常以下面的顺序发生：

（1）颗粒重排

（2）颗粒变形

（3）颗粒破裂

（4）颗粒结合

颗粒重排最初发生于粉末颗粒填充空隙。空气开始离开粉末混合物的空隙，颗粒变得更加接近。这个过程增加了粉末混合物的密度。颗粒的形状和大小是重排过程的关键因素。球形的颗粒比起其他形状的颗粒来说更不易移动，因为它们最初相互之间堆积得很紧密。颗粒变形发生于压制力增加的时候。这种变形增加了颗粒之间的接触点，被称为塑性形变[2]。

接下来是颗粒破裂，发生于压制力增加的情况下。在这一步，颗粒破裂形成了大量新的表面位点、额外的接触点以及潜在的结合位点。颗粒结合发生在塑性形变和破裂发生的时候。通常认为结合在分子水平上发生，为范德华力作用[2]。

当实际给予粉末颗粒一个外力时，颗粒中会释放出应力。颗粒倾向于恢复到初始形状或形态，这被称为弹性形变。当压力释放后不能完全恢复，被称为塑性形变。弹性和塑性形变能够同时发生，但通常只有一种效应占主导。

Parrot 认为有三种压缩键合的理论存在：机械力、分子间力以及液体表面膜。机械结合理论被认为各个颗粒经历了弹性、塑性和脆性形变，颗粒表面缠绕形成了机械的键合。分子间理论被认为有一些未中和的表面离子具有互相键合的潜力。在压力下，分子间距离更近，于是范德华力能够发挥作用巩固颗粒。液体表面膜理论被认为是由于一个薄的液膜的存在导致结合。薄液膜是由压制能量引起的压力产生的。这种机制类似于黏合剂所发挥的促进机械力、增大颗粒的作用[16]。有关这一理论的信息很少见。

Dehont 等提出了一个简化的方法来理解滚压理论[17]。他们认为粉末颗粒通过加料区的台面，原料通过与滚筒表面摩擦进入到间隙中，在这个区域发生的稠化即为颗粒重排。在这一阶段，粉末的速度已经比滚筒的外周速度慢。图 1 表示水平的压制滚筒，粉末垂直向下加入到压制区域。

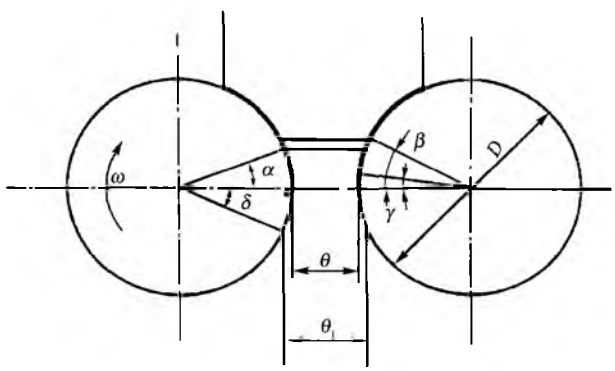


图 1 水平上的滚压机前视图[17]**（由 Ellis Horwood 提供）**

图 1 中的 α 代表夹角；β 代表一定体积的原料。原料位

Z

于 α 和水平轴之间的压制区域。在这一阶段，原料受到附加的压制力。颗粒经过塑性形变然后结合。Dehont 等注意到，夹角会随着原料诸如颗粒大小、密度等性质而改变，角度大约为 12°[17]。他们定义了一个中性角 γ，对应于滚筒对原料施加最大压力的位置。他们也定义了弹性形变 δ，这发生于压制物开始离开滚压区后。压实的薄片由于原料的弹性形变可能变大，实际厚度可能大于滚筒间隙 e[17]。

Dehont 等建立了式（1），用于指定滚筒直径下的薄片厚度的线性变化[17]：

$$e_1 = D(d_0/d_1 - d_0)(1-\cos\alpha) \quad (1)$$

式中：e_1 表示薄片厚度；D 为滚筒直径；d_0 为原料在角 α 时的密度；d_1 为薄片密度。

Dehont 等假定位于压缩区的物料保持水平，并以滚筒圆周速度移动。他们也认为夹角 α 与滚筒直径大小是无关的，并注意到薄片厚度 e_1 依赖于滚筒速度、滚筒表面和压制力。所有的这些参数都会影响薄片的密度 d_1。Dehont 等得出结论，如果不同的滚筒直径得到同样的薄片厚度，那么较大直径的滚筒得到的薄片密度更大[17]。这是由于形成了较大的夹角，较大的滚筒能够使更多的原料被压缩。

Heckel 认为粉末的压制类似于一级化学反应。小孔就是反应物，而压实的原料是产物。密度随压力的变化和小孔比例的相关性是反应的动力学过程[18]。Heckel 将其表述为已知粉末的压制行为的数学参数，并建立了一个数学关系，见式（2）[18]。

$$\ln\frac{1}{1-D} = KP + \ln\frac{1}{1-D_0} \quad (2)$$

式中：D 为相对粉末密度；D_0 为压力为零时的相对粉末密度；P 为实际压力；$1-D$ 为小孔比例；K 是比例常数。

这种密度与压力的关系的表述使得能在研究的压力范围内测定密度值。Heckel 在数学上给予了描述，当以 $\ln[1/(1-D)]$ 对 P 作图时，弯曲的部分与粉末压实有关[18]。这是通过各个颗粒在缺乏颗粒间结合时的移动机制产生的。Heckel 得出结论，$\ln[1/(1-D)]$ 对 P 曲线的线性区代表压实，压实发生在一定量的颗粒间结合之后，通过压制物的塑性形变的方式发生。为了定量，Heckel 重新定义了一个参数 A 的数学表达式，$A=\ln[1/(1-D_0)]$，除了在低压外都是有效的。他假定参数 A 比 $\ln[1/(1-D_0)]$ 稍大，代表在低压时堆积的程度，这是一定量颗粒间结合发生前的重排过程的结果[18]。他也假定参数 K 为线性区域的斜率，通过塑性形变对压制物压实进行了测定。

Heckel 得出结论，认为密度与压力的数据阐明了密度随压力的变化率，在任何压力下是与压实部分在该压力下小孔所占部分成比例的。另外，密度与压力的曲线可用两个参数描述。他认为一个与低压时颗粒间运动形成的压实有关，另一个则通过颗粒间结合后的塑性形变测定了压制物的压实能力。

Johanson 通过很广泛的数学模型和关系，为滚压机确定了物料性质、压力维数和操作条件。要了解更多信息请阅读参考文献 [19]。他认为滚压包括了连续的颗粒的剪切变形成为固体块。

为满足这个理论的假设，物料被设为等方性的、有摩擦的、黏着的和可压缩的。图 2 描述了物料在压力下经过剪切变形成为固体块[19]。

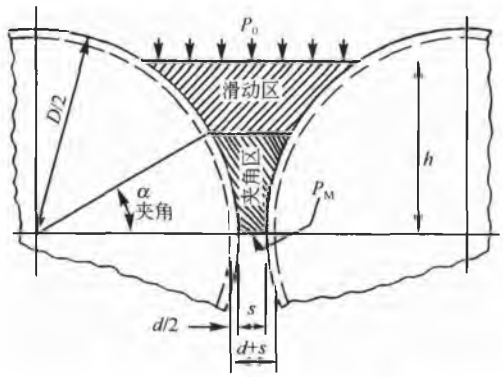


图 2 水平面上的滚压机前视图，描绘了在不同压力作用下的粉末区域（图片来自 Transaction ASME[19]）

图 2 中的 P_0 为滚筒间的水平压力；α 为夹角；$2d$ 为滚筒直径，即 D；h 为滚筒中心线上面的高度；进料的压力 P_0 施加在中心线上；P_M 是滚筒的角位为 0 时的水平压力；s 是滚筒的间隙。

Johanson 指出那时没有滚压理论测定 $\theta=\alpha$ 时的夹角和堆密度，除了通过一定的滚动压力下翻转粒状的固体。他也提供了一种方法来测定夹角和滚筒间的压力分布，计算测定了夹角区上面的压力分布和夹角区内的压力[19]。

他提供了技术上的基本原理来计算夹角区的压力。位于弧长 ΔL 之间的体积为 V_α 的物料应该在同样的弧长间被压缩至体积 V_θ。这个关系要求 V_α、V_θ 时的堆密度 γ_α、γ_θ 具有方程（3）的关系（图 3）[19]。

$$\gamma_\alpha/\gamma_\theta = V_\theta/V_\alpha \quad (3)$$

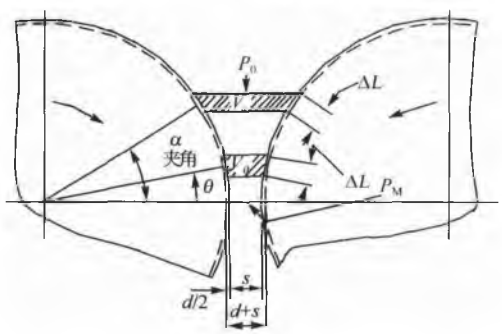


图 3 水平面上的滚压机前视图，描绘了夹角区（图片来自 Transaction ASME[19]）

图 3 定义了部分参数：P_0 为滚筒之间的水平压力；θ 为滚筒的角位；α 为夹角；$2d$ 为滚筒直径 D；h 为施加加料压 P_0 时的滚筒中心线上高度；P_m 是 $\theta=0$ 时的水平压力，s 是滚筒的间隙，ΔL 为弧段长；V_α 为弧形长描述的体积空间中的原料；V_θ 为弧形长描述的压缩体积空间，γ_α、γ_θ 为

各自体积空间 V_a、V_θ 时的堆密度；以及 K 是给定的湿度、温度和压制时间的物料性质参数。

Johanson 认为，在任何 $\theta<\alpha$ 时的压力下，σ_θ 是压力 σ_a 的函数，当 $\theta=\alpha$ 时，可以通过压力与密度的关系求算。可以这样认为，随着压力增加，其对数值与密度的对数值呈线性关系[20]。

Johanson 发现夹角不依赖于滚动力或者滚筒直径的值，认为夹角几乎不受压力的几何学或者滚筒表面的切割凹槽影响，最多是受到被压制的原料的性质影响。可压性好的物料，K 值小，具有很大的夹角。相反，不易压制的原料，有大的 K 值，夹角很小。最后，Johanson 的研究结果显示，物料的性质决定了滚筒能够施加到物料上的最大压力。

Parrott 对几种药物粉末压实成薄片进行了评估，然后经过振荡制粒机整粒。他研究了薄片厚度、堆密度和振实密度、休止角和筛分后的流速。他的研究表明了颗粒密度基本能提高，但颗粒的流动性质不一定能提高[21]。

当在高压下压制时，几乎所有的颗粒物都能聚集。有时，光靠压力是不能获得足够的结合力，因此，需要在粉末混合物中加入黏合剂[1]。聚合物黏合剂以一定比例加入到混合物中，会在颗粒粉末之间形成高黏性的桥。当聚合混合物被压制时，黏合剂增加了整个压实力，提高了颗粒之间的结合，能够提高粉末流动性。在本章后面，关于黏合剂的使用还会有讨论。

Pietsch 提出了一种衡量使用平滚筒的滚轧机的压实生产能力方程，该设备的生产能力方程在本质上是理论化的，它假设所有的压制物 100%可用于下游生产。滚压机的压实生产能力 C_c 可用式（4）进行测定[6]。

$$C_c = \pi D l h_A n 60 \gamma \quad (4)$$

式中：C_c 是滚压机生产能力，kg/h；D 为滚筒直径，cm；l 为滚筒长度，即工作宽度，cm；h_A 为滚筒间的间隙宽度和薄片厚度，cm；n 为每分钟的转速，min^{-1}；γ 为表观薄片密度，kg/cm。

滚压机的设计特征

聚焦当今制剂工业最先进的滚压机，最核心的改进之处当然在于可编程的逻辑控制器（PLC），可用来控制和监控机械部件，调节螺杆加料速度、滚筒速度、滚动压力、滚筒间隙、真空脱气以及碾磨速度。本节不讨论 PLC 的设计，因其涉及滚压机的设计特征和改进。

简单来说，一个关键的机器革新——真空脱气，是一个新的重要设计特征，在 20 世纪 90 年代早中期由一些滚压机供应商添加。事实证明这个设计特征可以在压实之前预先改善物料的密度，从而增加产量[22]。其他设备特征如多重水平或者倾斜进样螺杆，都有助于均匀的进料通过滚筒[22,23]。新设计的滚筒机械模块，以悬臂滚动系统为特征，提供了更有效的方式来清洁、处理和方便产品和设备的转场。新的储藏漏斗和多种螺杆进料器的设计已经改进了流动性差的粉末向滚筒的传送。

漏斗和加料螺杆设计的历史说明每个设计均促进和改善了粉末流动到压制传输系统。图 4 显示了加料斗的设计是和旧的滚压机模型［例子（a）～（c）］合为一体的。Dehont 等记录了粉末压实加样系统直到 1989 年还在使用[24]。

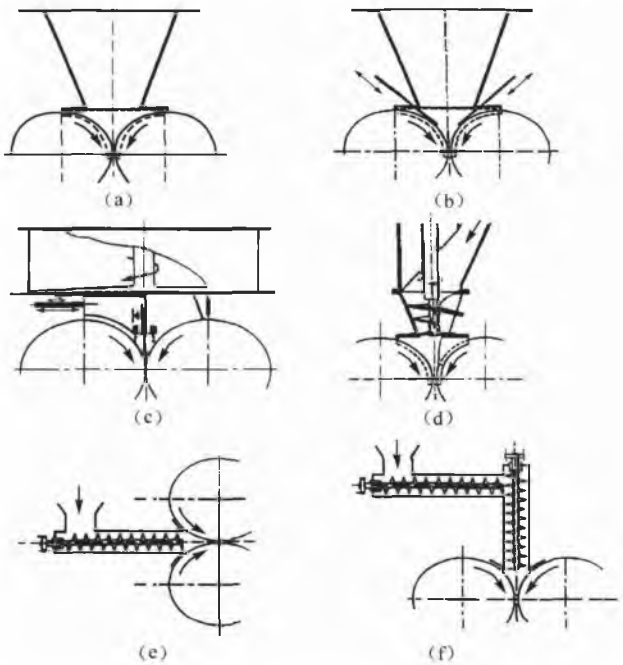


图 4 加料斗的设计。(a) 单加料斗；(b) 单副翼的加料斗；(c) 副翼分布箱；(d) 强制加料器（来源于 Ellis Horwood Limited[17]）

当物料有较好的流变学性质时使用漏斗（a）；原料有好的但是独特的流动性，需要在滚筒表面均匀分布时，如颗粒状盐类，使用有导向翼的漏斗（b）；当粉末原料的流变学性质差时，一个带有垂直翼的分布箱（c）安装在漏斗下面，它主要是用在压实矿石上；强制加料的设计，如（d）～（f），在制药工业中用得更普遍。它们在使用中有多种设计和形状，用来将流动性差的粉末加入到滚筒间的夹角区中。

Pietsch 在图 5 中描述了现代的加料螺杆系统的设计。（a）描述了带有略微锥形末端的垂直强制加料螺杆；（b）为倾斜的加料螺杆；（c）为垂直锥形叶片螺杆加料器；（d）为水平（单或双）的笔直加料螺杆[25]。

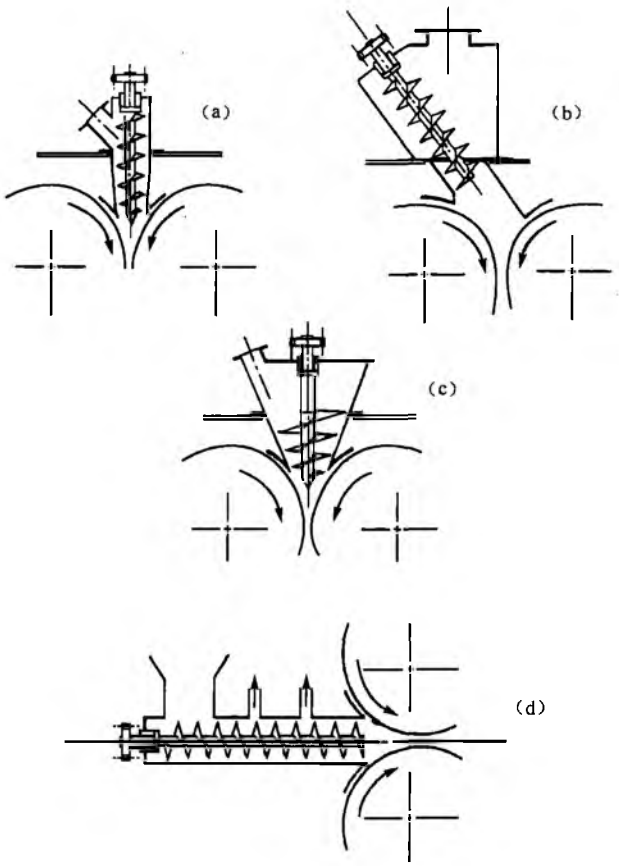


图 5 强制加料器。(a) 垂直和稍呈锥形的螺杆加料器；(b) 直的倾斜螺杆加料器；(c) 锥形的垂直螺杆加料器；(d) 水平的直螺杆加料器（来源于《粉末科学手册》[25]）

创新设计的螺杆加料系统商业化地用于全世界的滚压机，例子见图 6。

筛分设备现在安装在滚压机身上，并受可变速驱动器控制。大多数滚压机不再需要第二个机器（研磨机），像压制大片技术要求的那样筛分压实物。滚压机有在线清洁系统（CIP），具有环保和安全的特性。这些装置将人与化学品的接触最小化并提高了清洁效率（图 7）。

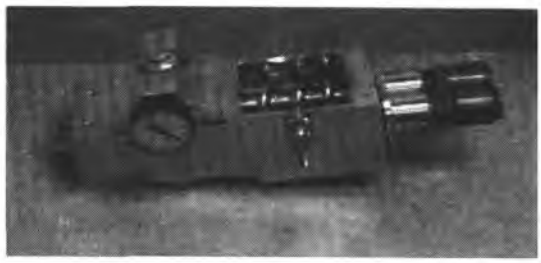


图 6 带真空脱气的双水平加料螺杆系统（来源于 Alexanderwerk Inc.）

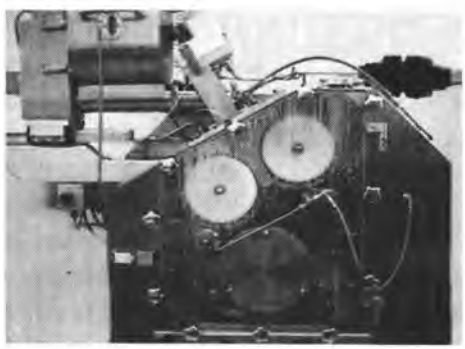


图 7 滚压机 CIP 系统（来源于 Gerteis Co.）

滚筒构造

压制机的设计经过了多年的发展，到 20 世纪 70 年代中叶，研究发现一系列的滚筒设计的改进能提高压制效率。那时发现了三个关键条件，使得滚压产量最大化，未压制的粉末泄漏量最小化[26]：

- 必须有足够的粉末进入夹紧区；
- 粉末必须全部传送到滚筒间隙最窄的部分；
- 压制的压力必须尽可能地沿着整个滚筒夹紧的粉末均匀分布。

设备工程师和研究者致力于加料设备系统和滚筒设计的改进，以最大化地满足上述条件。一些关键的进步可以参见参考文献 [22]，本章中将再次强调。

由于夹角区和滚筒间隙区的粉末加料的可变性，在压制过程产生了粉末泄漏。这种情况下产生了过多的细粉，可能还有不符合需要的处理原料。这个问题通常是由粉末加料通过滚筒的中部时，不均匀的粉末流动和压实引起的。这种情况下产生的颗粒显然是不能满足进一步制剂加工需要的。

Funakoshi、Asogawa 和 Satake 三人设计了一个实验，采用矩形的孔道安装在加料螺杆的末端，目的是防止不均匀的粉末通过滚筒流动。Funakoshi 小组证明使用一面凹一面凸的滚筒具有积极的效果。这个特征抵消了边缘的密封效应（断裂的或不完整的压实边缘）。他们也设计和测试了其他滚筒（镶边的一面凹一面凸的滚筒），能够使粉末通过滚筒时分布得更均匀。该设计将压缩时的粉末泄漏最小化[26]。

Funakoshi 小组也证明，当滚筒边缘内角为零时，粉末不能被充分和均匀地传送到夹紧区和压制区。这是由于固定的边缘密封阻止了粉末的流动[26]。他们的工作阐明了形成的压实和压力（使用标准滚筒）是由于边缘密封摩擦在通过滚筒末端时产生了不均匀的压实。当他们使用新设计的凹凸镶边滚筒时，它保护了压实部分不受边缘密封破裂效应的不利影响。Funakoshi、Asogawa 和 Satake 三人也对适当挑选的镶边的滚筒进行了测定，发现它能够传送足够的粉末到压制区，也能够运送粉末完全通过滚筒间隙区。他们得出结论，内壁边缘的高度和斜率能最优化地影响到边缘密封效应。一个 65°的内壁斜率在乳糖的压制期间能够产生 2.5%～3.0%的细粉泄漏。当滚筒没有内壁边缘时，细粉的泄漏达到 15%。概括地说，他们通过使用凹凸的镶边滚筒能够将沿滚筒的压实和压力分布最优化。他们认为最好的滚筒设计仍然依赖于粉末原料的性质[26]。

Parrot 进一步证实了镶边的凹凸滚筒对于增加多种制剂粉末密度的有效性。他对加工过程进行了最优化，未压实的泄漏率为 5%。优化依赖于粉末的物理性质和机器的操作条件，如滚筒间隙、加料螺杆速度和滚筒速度[27]。其中一些关键的设计特征发现总结：

- 选择安装凹凸的滚筒表面而不是平坦的滚筒对；
- 安装矩形的加料斜道和副翼；
- 设计圆柱形的、圆锥形/圆柱形或者锥形的可变速的螺杆加料器；
- 将滚筒边缘角优化至 65°；
- 安装数安或模拟的可调进料螺杆控制器；
- 开发水平的和可变的螺杆加料系统。

Jerome 等在 20 世纪 80 年代研究了压制调节器对粉末混合物性质的影响。他的小组研究表明活动的滚筒所施加的压力不是主要因素，最重要的变量是和滚筒速度有关的滚压机加料螺杆。他们把提高的片剂硬度和加料螺杆速度联系在一起，而加料螺杆速度又与滚筒速度有关[28]。

图 8 显示了典型的滚筒的构造。现在大部分滚压机在各个轴承座上分别有一个移动的滚筒和一个固定的滚筒，见图 9。

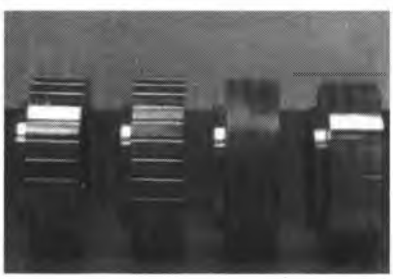


图 8　滚筒结构设计
（来源于 Alexanderwerk Inc.）

现在，一家生产用于制剂工业的滚压设备的制造商采用固定的成对滚筒系统。这种类型的滚筒设计系统依赖于粉末的重力加料，以及特殊设计的压缩加料螺杆来连续地传送粉末到固定的滚筒对中，见图 10。

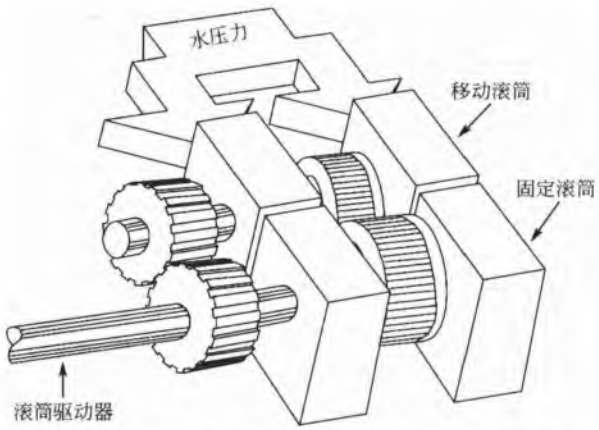


图 9　滚压机滚筒部件（来源于《药物制粒技术手册》[2]）

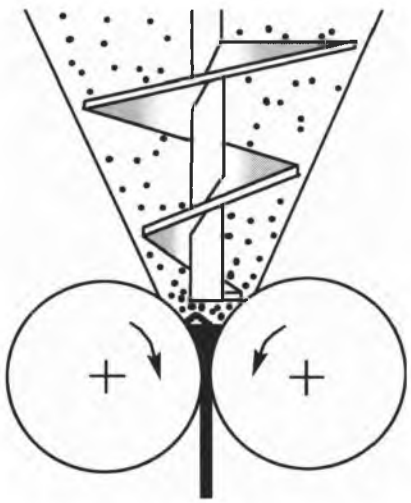


图 10　压制加料螺杆和固定滚筒系统且无真空脱气
（来源于 Bepex-Hosokowa Co.）

Pietsch 描述了两对具有不同直径 D_1 和 D_2 的滚筒，具有同样的滚筒间隙 h_A。他提出一种理论认为，如果两对滚筒的圆周速度是一样的，那么大的滚筒对的滚筒压制发生得更渐进。同时，大直径的滚筒对将更大体积的粉末加入到夹角区中，使得压实产品的密度更高。当在相同圆周速度下操作时，大直径的滚筒对较小直径的滚筒对更能有效地减少空气夹带[25]。

Pietsch 注意到在整个压实区域，滚筒圆周速度和颗粒粉末速度不是相等的。产量不是随滚筒速度成比例增加的。有两个效应阻碍生产量：加料区的匮乏效应，颗粒块中的太多压缩空气向上流动阻碍了粉末流动，减少了原料向夹角区的供应[25]。

什么是压制过程的最佳滚筒速度？哪些因素是配方科学家或工艺工程师所需要用来最大化压实质量和产量的？Johanson[29]试图通过预测压块的滚筒限制速度来回答这些问题。他建立了一种数学表述，甚至考虑了气体和液体在理论上从固体块中挤压出来的效应。固体性质、压力维数和操作条件被用来预测最佳滚筒速度。这些用于高质量压

制所需的结果对低密度的细粉颗粒最重要。Johanson 的工作显示了加料压力和滚筒速度的关系在本质上是与原料的渗透性（多孔性）成比例的。例如，当初始的粉末被压实、筛分、再压实，粉末的渗透性增加了；而当粉末被压缩时，压力减小，滚压机加料压力的要求也明显减少。Johanson[29]也阐明如果滚压机加料压力保持不变，压制速度增加，施加在压块上的最大压力随着滚筒速度的增加而减少。结果，压块的密度和强度也同样地减少。如要了解更多的信息，感兴趣的人可以细读参考文献。

Sheskey 和 Hendren 于 1999 年研究了滚筒表面构造对于 HPMC 骨架控释制剂中药物释放和物理性质的影响[30]；使用一个 Vector Model TF-Mini 的滚压机（Vector Corporation）研究了平滑和轴向凹槽的滚筒表面设计。他们的假设是滚筒表面的凹度深度越大，施加在被压实的粉末上的压力就不会像平滑滚筒表面那样均匀分布。因此，正如压片工具的设计，压实带的冠状区顶部在理论上应该比带的其他部分更软。然而，使用光滑和轴向凹槽的滚筒，对在碾磨带上颗粒进行粒径分布的测试表明，测试的样品之间具有相似性。另外，结果还显示使用两种滚筒表面设计（平滑或轴向凹槽）生产的样品之间，片剂压碎强度值几乎没有差异。使用两种滚筒表面构造进行的滚压制粒生产出来的片剂，其药物释放性质也是相似的。这里我们注意到作者并没有测定产品的产量来说明使用凹槽滚筒对可能比平滑滚筒对的效率高。

加料螺杆的设计

加入到滚筒对中的粉末的持续性和均匀性在更大程度上决定了如何完成压实以及最后压制过程的成功。大部分滚压系统有泄漏的缺点，如 20%～30%的粉末颗粒（根据具体的剂型）没有被压实。这主要是由于不均匀的粉末加料，粉末在各自松散的颗粒间和滚筒间滑动。在这些条件下，通常有必要将未压实的粉末或细粉重新加工。重复压实过程是一个重要的缺点，因为有额外的资金消耗、劳动成本和生产时间增加。

滚压的主要目的是连续产生具有足够强度、合适密度、粒度和粉末流动的团块。在操作上，压制机的主要目的是在给料中维持一定范围的压力（与加入到滚筒中的上下浮动的粉末粒度和流动无关），所以形成一致的压实。

压实过程是通过控制加入的原料、单位时间的量、滚筒速度和滚筒间隙来进行的。允许滚筒间隙变动会影响生产效率和压实质量。因此，在压实操作中通过设定不变的粉末加料速度对于控制压实过程是很重要的。

对滚压机的粉末加料进行设计的革新是复杂的。复杂性是两方面的，粉末原料能够很好地移动和流动，很容易在滚压机的加料侧进行处理。这些类型的原料通常不需要明显的压实来大规模地提高其流动处理特征。另一方面，流动性差和低密度的粉末需要特殊的设备和考虑来给滚压机加料。另外，有必要在压实过程中维持加入到滚筒中的粉末流动和原料质量不变。因此，加料系统的传送在传送流动性差密度低的粉末原料到滚压机时就扮演了重要角色。

Johanson 在 1995 年描述了一种拱形/隔断的漏斗设计，能够有效地将流动性差的粉末通过漏斗加入到水平的加料螺杆中。这种独特的漏斗设计消除了流动性差的粉末在漏斗中的“鼠穴”效应，见图 11[31]。

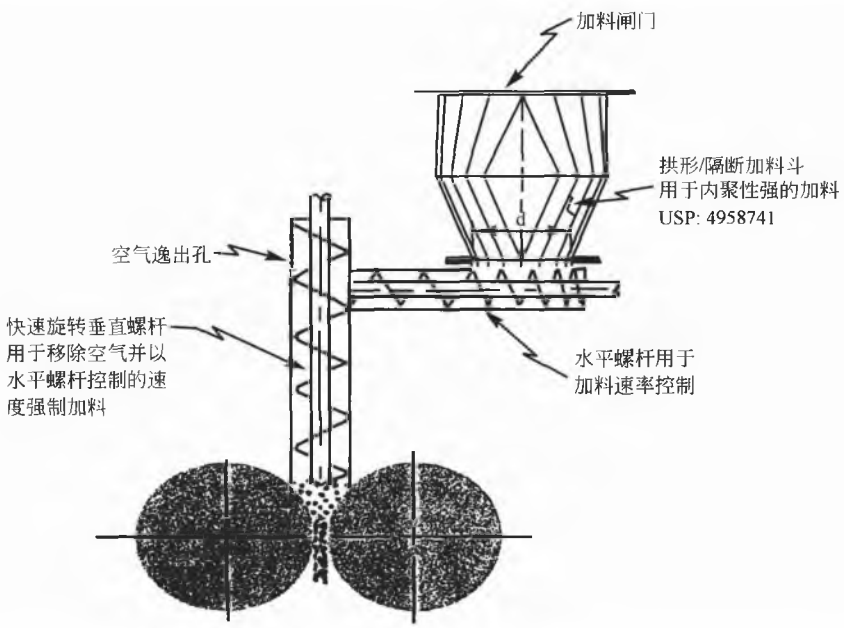


图 11 拱形隔断的加料斗设计（来源于压团结块研究所[31]）

Miller 注意到整个压实所需功率是加料螺杆和滚筒驱动所需功率的总和[2]。加料螺杆不仅将粉末原料从滚压机储存料斗中传送，也在此过程中将粉末中的空气除去。对粉末的脱气作用就像一个滚压机在滚压前预先将原料压实。对于不同性质的粉末原料，最适合的压实压力和加料螺杆设计也不同。堆粉末密度和加料螺杆速度的变化会影响滚筒间隙、压实压力、产量和压实的质量[2]。

Weggel 指出加料螺杆转矩直接随压实前压力变化[32]。他认为通过维持不变的加料螺杆压力，滚压机操作者可以控制压实的质量。预压压力和压实压力的变化直接和加料螺杆安培数及滚筒驱动马达相关。压实压力依赖于连续的粉末流动到加料螺杆区域。如果粉末加料流动是间歇的或被阻断的，会影响到加料螺杆的安培读数，最后会影响到滚筒驱动的读数。Weggel 注意到对原料强制加料能够除去储存在原料中的空气，降低滚压的负荷。他发现在滚压过程中的多个阶段通常能更有效地达到最大压实[32]。

Miller 在 1996 年注意到垂直圆柱形的加料螺杆设计倾向于将粉末均匀地加入到加料螺杆的圆周[2]。他认为粉末向滚筒的加料与通常矩形的滚压机喉口不一致。这个被观察到的缺点正说明了粉末不能均匀地通过滚筒，滚筒中间比边缘接受到的粉末多。这就很可能出现质量差的压实；由于边缘磨损而出现中间强边缘弱的压实。磨损的压实边缘产生了未压实的原料和过多的细粉[2]。这个现象的一个例子是，当使用浅黄绿色相间的储存加料，在滚压后使用双螺杆加料系统，会产生出颜色均一的压实。同样的加料通过单垂直的加料螺杆设计的滚压机后，生成正弦曲线的压实，见图 12。

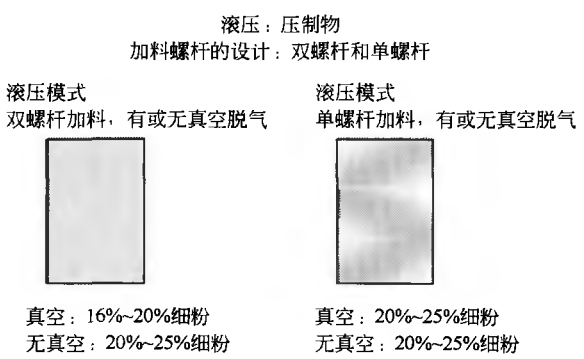


图 12 滚压：压制物滚筒滚压机加料螺杆设计：双加料螺杆和单加料螺杆（来源于 R. W. Miller 的个人资料）

Guigon 和 Simon 在 2001 年注意到了一种相似的现象，当压实氯化钠时使用一种水平的单加料螺杆并没有真空脱气[33]。

Miller 认为一个多重的水平加料螺杆设计系统，在区域和体积上都比单垂直的加料螺杆系统，形成沿滚筒更均匀的粉末分布。这个概念应用于或者垂直或者水平的单加料螺杆系统[2]。

脱气理论

一个限制压实产量和质量的关键因素是粉末原料中残存的空气。在压实过程中，颗粒间的空气占据的空间被压缩和挤压。气流推动粉末引起粉末流动以及滚筒间隙的粉末不均匀，图 13 很好地描述了这种情况。这种状况限制了压实的产量，形成了不均匀的压实密度。由于“爬虫状”压实的边缘，也会在筛分之前产生过多的细粉。



图 13 气体从滚筒夹角区逃逸出来的模式[35]

当气体进入压实物的内部稀稀疏疏地形成薄片边缘时，形成了爬虫状的状况。薄片边缘垂直于压实的方向断裂开。压实的边缘断裂处在结构上显锯齿形，而在长度上依赖于粉末结合性质，空气夹带量和滚筒停留时间而变化。

Johanson 预测了理论上的滚压机操作条件，以处理空气夹带的原料。他总结为，临界的压实压力水平依赖于一系列的因素：滚筒速度、滚筒直径、粉末渗透性、可压性和压实强度。Johanson 指出，当在商用上使用这些原理时，滚压机操作者应该将操作压力设定得比最大压力稍小，这样来容许原料不一致和进料流动速度的变化[34]。

Pietsch、Johanson 和 Dec 描述了粉末被压实时，滚压时所施加的力[25,34,35]。Pietsch 在图 14 中说明了压实过程中的典型的三个工作相[25]。第一个区域是最初固体和加料螺杆的接触压力。这点上的压力为零，p_0。然后，当固体开始进入滚筒，被滚筒所夹紧时，压力开始增加。最后，固体移动到夹角区的最窄的一点时，出现了最大压力，p_{max}。第二个区域描述了固体的密度随着压实而增加。正如图 14 显示，稠化在不到一秒钟快速地进行。有些原料在从滚压机释放出来后发生弹性形变，这会降低压实的密度，以点状的曲线表示。第三个区域是空气压力。模型表明了这是依赖于压实的颗粒固体的多孔性。如果在压实过程中，原料的多孔性维持足够高，那么在压实中和压实后，空气压力能够避免和排除。另一方面，如果原料的多孔性低，空气压力不能轻易排除，则会达到高水平。这可以通过多种方式观察到，一种是通过压实膨胀爆裂。操作时爆裂会伴有爆裂声。第二种会发生在压实的薄片裂解成长条或者压实边缘呈“爬虫状”的时候。

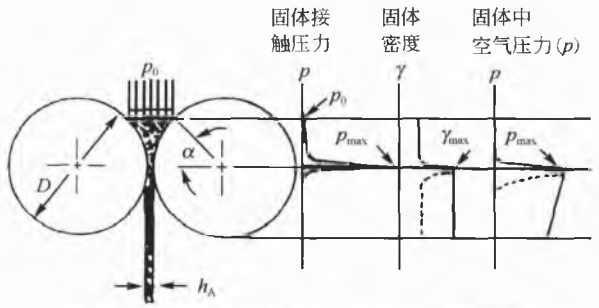


图 14 压实工作相（来源于《粉末科学手册》[25]）

Johanson 和 Pietsch 都报导压实中膨胀的气体对压实过程是有害的：降低压实产量，增加细粉颗粒的量。Pietsch 用图 15 说明了滚筒速度和粉末多孔性对压实薄片中的气压的影响[25]。图中显示了当压实多孔性粉末时，一个相对大的滚筒速度操作范围。空气的夹带不会限制加工粗颗粒粉末的滚筒速度。另一方面，当压实十分细的粉末时，由于空气的夹带，操作的滚筒速度范围会明显降低。

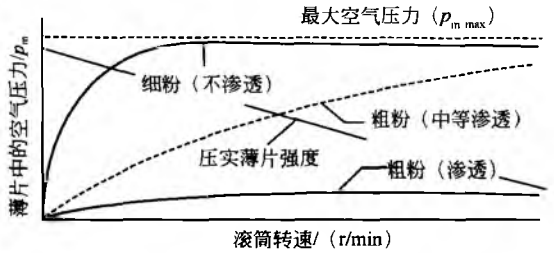


图 15 滚筒速度和渗透性对于压实薄片上的气压的影响（来源于《粉末科学手册》[25]）

Miller 指出进入滚筒中的粉末，其均匀性在很大程度上决定了压实是否能成功。滚压系统有两个缺点：当粉末堆密度达到 0.3 g/cm³ 或更小时，压实的产率会降低。与前者同时存在的另一个不足是，未压实的粉末泄漏会沿着滚筒周围增加[22]。Miller 在 1994 年提出一个新的设计，使用了真空脱气将压实时夹带的空气在夹角前除去。这种行为的多种益处是明显的，当压实低密度的物料时效果更是明显[22]：

- 更均匀的粉末加至滚筒中；
- 滚筒对的电压和电流变化小；
- 更均匀和强的压实；
- 粉末泄漏小；
- 更大的产量；
- 筛分前黏在压实物上的粉末更少；
- 含空气的颗粒更少；

这种新设计的设备为具有双水平加料螺杆的滚压机，以真空脱气为特点。特别是这种滚压机装有带可变速搅拌器的圆锥形储存漏斗。粉末堆直接从漏斗的顶部加入到双水平加料螺杆的顶部，其直接把粉末运送到滚筒夹区，见图 16[2]。

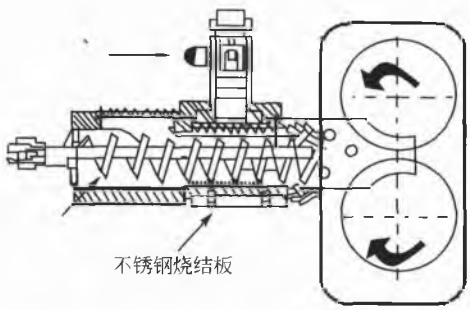


图 16 侧视图：加料螺杆系统和带有烧结板片断的真空脱气（来源于《药物制粒技术手册》[2]）

一种新的不锈钢外壳使滚筒装配了可变速的螺杆。在夹角区前，一对烧结的不锈钢片断装配在水平的螺杆加料系统中，这种系统能在部分真空下操作。一个小的、完备的真空泵通过一个干的过滤器和一个不锈钢线对烧结的装配板施加负压。部分的真空调节范围为－0.1～－0.8bar。在不同的速度下操作压制滚筒，受到结实的轴承的支持，其中较低的滚筒是固定的，而处于上位的滚筒在垂直面上可以稍微移动。脱气的原料通过处于无级可调的水压下的滚筒对。脱气作用、加料螺杆的设计和速度、滚筒速度以及滚筒水压都是生产具有特殊性质的压实物的主要因素。

在多个实验中，Miller 研究了适用水平双加料螺杆在部分真空下的效应（Alexanderwerk Inc.，50/75 型滚压机）。加料粉末在滚压前被真空脱气。实验设计显示当压实密度很低的混合物（＜ 0.35g/cm³）时，滚压机的脱气加料系统明显提高了压实产量，降低了粉末泄漏[22]。

为评估滚压机的脱气系统的效力，进行了实验，实验中使用或不使用脱气系统来处理低密度的活性药物混合物。这个实验显示了使用或不使用脱气系统时有多少物料能被压实。实验也测定了每种情况下有多少物料未被压实（粉末滚筒泄漏）。在多个实验中，定量的粉末混合物（密度 0.25～0.35g/cm³）用脱气系统进行了处理。原料以特定的螺杆加料速度、滚筒速度和滚筒压力进行压实。压实的原料未经过筛分，相反地，被小心地收集到一个 10 目的筛子中，来测定压实和泄漏的量。在第一个实验中，在真空脱气的作用下，滚压机产生了 100kg/h 的产量，而相应的未压实原料的泄漏率为 2%。真空脱气十分有效，只引起了十分有限的未压实原料的泄漏，因此也就没有必要再将未压实的粉末重新加入到滚筒中来满足加工的要求。

在第二个压实条件的设置下，真空脱气没有启用，加工过程生产出的是 70～80kg/h 的稠化压实。粉末的泄漏率增加到 20%～30%。在这些条件的设置下，粉末流入滚筒对时是不均匀的，带状的压实是不一致的。在这些条件下长时间地按这种配方进行处理，要求有循环设备来把未压实的粉末再次加入到滚筒中来满足进一步加工的要求[22,36,37]。滚压机参数见表 3（实验 1 和实验 2）。

表 3 配方 1，流动性差密度低的活性药物混合物的真空脱泡和非真空脱泡实验，其滚压机操作条件和产量

条件	实验 1	实验 2
粉末密度/(g/cm³)	0.25～0.35	0.25～0.35
螺旋加料/(r/min)	52	52
滚筒速度/(r/min)	8	8
真空/bar	－(0.78～0.80)	0
滚筒压/bar	60～65	60～65
压实速度/(kg/h)	100	70～80
压实泄露速度/(kg/h)	2	15～20

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供[2]。

第二个实验采用不同的配方来进行的，包括同样的活性药物和每单位剂量同样的活性物量。这个实验重复了第一个实验的设计。加入的粉末在真空脱气或不脱气的条件下处理和压实。压实率的测定和第一个实验采用的是同一个方法。压实参数被特意地优化到 8r/min 的滚筒速度。在使用脱气系统的情况下，滚压机的产量为 150kg/h，并且粉末泄漏率仅为 0.9%。当不使用真空脱气时，压实过程产量为 100～110kg/h，并且粉末泄漏率为 20%～30%。表 4（实验 1 和实验 2）列出了参数设定和结果比较[22,36,37]。

表 4 配方 2，流动性差密度低的活性药物混合物的真空脱泡和非真空脱泡实验，其滚压机操作条件和产量

条件	实验 1	实验 2
粉末密度/(g/cm³)	0.25～0.35	0.25～0.35
螺旋加料/(r/min)	52	52
滚筒速度/(r/min)	8	8
真空/bar	－(0.78～0.80)	0
滚筒压/bar	60～65	60～65
压实的速度/(kg/h)	150	100～110
压实泄露速度/(kg/h)	1.3	20～30

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供[2]。

两个实验都清楚地说明了在压实前粉末真空脱气的重要性。另外，第二个配方的压实产量（有或无真空脱气）与第一个相比有了提高。配方设计师在不改变堆密度或其他堆参数的情况下，通过降低粉末混合物流化水平（定义为在特定搅拌速度下的粉末空气含量）来提高压实率。

Miller 注意到流化水平是一个主要的参数，应该被最小化来提高压实产率[22]。在其他的多个实验中，Miller 也研究了使用两种不同滚压机的真空脱气系统的效应。这些实验和先前描述的实验相似，采用不同设计的滚压机（采用或不采用真空脱气）进行的。这些实验的目的是增加物料的堆密度，从 0.22g/cm³ 到 0.6 g/cm³[2]。

Miller 报道了一种滚压机，机器 1，含有水平的双螺杆和真空脱气设计，见图 16，生产的颗粒密度为 0.63 g/cm³ 到 0.64g/cm³，产量为 80kg/h。当真空脱气没有启用时，不能获得所需的颗粒密度。见表 5（实验 1 和实验 2）上的操作参数和滚压机机器设计 1 的结果。

表 5 当对流动性差密度低的活性药物混合物进行压实时，滚压机设计 1 的操作参数和结果

条件	实验 1	实验 2
初始密度/(g/cm³)	0.22	0.22
粉末密度/(g/cm³)	0.63～64	0.45
螺旋加料/(r/min)	52	52
滚筒速度/(r/min)	8	8
真空/bar	0.65	0
滚筒压/bar	50	50
压实的速度/(kg/h)	80	42

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供[2]。

第二个滚压机，机器 2，见图 17，使用真空脱气在第一次运行时不能压实活性药物颗粒。在经过第二次真空脱气的压实后，实验 2，粉末密度稍微增长到 0.58 g/cm³。这反映了用于活性药物的真空水平还不足够，效率低或者还没有优化配置（即使是在最大的真空脱气水平）来有效地再压实[2]，见表 6（实验 1、2、3）上的机器 2 的操作参数和结果。

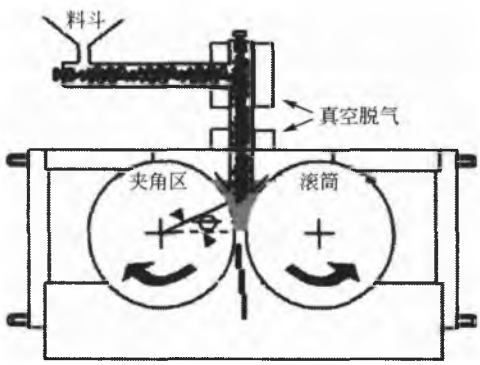


图 17 滚压机中带真空脱泡的垂直加料螺旋系统的前视图（来源于《药物制粒技术手册》[2]）

表 6 当对流动性差密度低的活性药物混合物进行压实时，滚压机设计 2 的操作参数和结果

条件	实验 1	实验 2	实验 3
初始密度/(g/cm³)	0.22	0.45	0.22
粉末密度/(g/cm³)	0.45	0.58	0.46
螺旋加料（水平)/(r/min)	30	30	30
螺旋加料（垂直)/(r/min)	260	260	260
滚筒速度/(r/min)	6	6	6
真空/bar	0.34	0.34	0
滚筒压/bar	50	50	50
压实的速度/(kg/h)	40	48	36

注：承蒙《药物制粒技术手册》提供[2]。

Z

Miller 的实验评价了粉末密度、螺杆加料速度、滚筒速度、滚筒压力，真空脱气压力、压实率和压实泄漏率的效应。测试结果显示第一个滚压机的脱气和加料系统设计显著地增加了压实产量。新的设备设计和工艺具有高压实产量和明显降低的粉末泄漏，不需要昂贵的粉末再循环装置。具证实滚压机 1 的真空脱气设计（图 16）当压实密度为大约 0.2 g/cm³ 的活性药物时，比第二个（图 17）好。概括起来说，一个新的关键条件，真空脱气，被认为能够优化滚筒压实的效力和效率[2]。

Miller 得出结论，优化滚压压实产量和减小滚筒周围的粉末泄漏，必须存在 4 个关键的加工条件[2]：

- 必须有足够的粉末进入夹紧区。
- 粉末必须全部被传送到滚筒间隙最窄的部分。
- 压实的压力必须尽可能地沿着整个滚筒夹紧的粉末量来均匀分布。
- 在滚筒夹角区之前必须有足够的真空脱气有效地分布，尤其是对低堆密度的粉末原料。

筛分压实物

还没有公开发表的有关滚压碾磨的研究。Rekhi 和 Vuppala 很好地撰写了有关粉碎或减小粒径的理论[38]。他们描述了碾磨选择、碾磨分类和影响筛分及放样的因素。感兴趣的读者可以细读 Parrot、Johnson 和 Lantz 的相关文献[39~41]。

设备特点

更深入地对制剂工业中最先进的滚压机的了解在下文介绍。作者在描述这种主要的工业化滚压机的设计特点时，对细节十分注意。从设备制造商处可获得电子图片和设备的描述，这是最好的方法来公正地描述各个公司的机器设计特点，更切入主题，以及使得本节的内容对读者更有意义。所有介绍的设备革新都具有高水平的工艺控制、产量效率、安全性和产品质量。在本节，会提到筛分设备但不会具体介绍。

Alexanderwerk 公司的滚压机（图 18）是具有水平双加料螺杆系统的模块设计，能够往两个垂直位置（6 和 12 点位置）的悬臂滚筒中加料。一个滚筒是固定的而另一个是浮动的，滚筒可以被冷却。这个水平的加料螺杆特别地被不锈钢所包围，含有一个独特的真空脱气系统。操作界面允许在线监测和控制加料螺杆速度、滚筒间隙和压力、筛分整粒机。诊断特征功能也是在线显示的，如操作、维护和校准。所有的功能均有界面，可通过 PLC 加以调整，以进行工艺控制和报告监测。两个筛分整粒机（粗粉和细粉单元）是串联的，并和滚压机是一体的。

Gerteis 公司的滚压机（图 19）由三个主要单元构成：加料系统、压实和制粒单元。加料和填塞螺杆将粉末传送到压实区域，这种机器配有真空脱气系统。监测和控制滚筒力、间隙距离和滚筒间的速度、扭矩分布，可以通过



图 18 电脑控制的带有水平加料螺旋，真空脱泡和悬臂滚筒的滚压机（来源于 Alexanderwerk Inc）

PLC 进行调整实现工艺控制。滚筒以 30°的角度安装到水平面上，一个滚筒固定另一个浮动，两者都是悬臂的。筛分单元安装在机器上，由两个预碎机组成，一个转子，可互换的滚筒和筛篮。这个系统的界面可为工艺文件收集数据。滚筒能够被冷却，机器具有 CIP 能力。

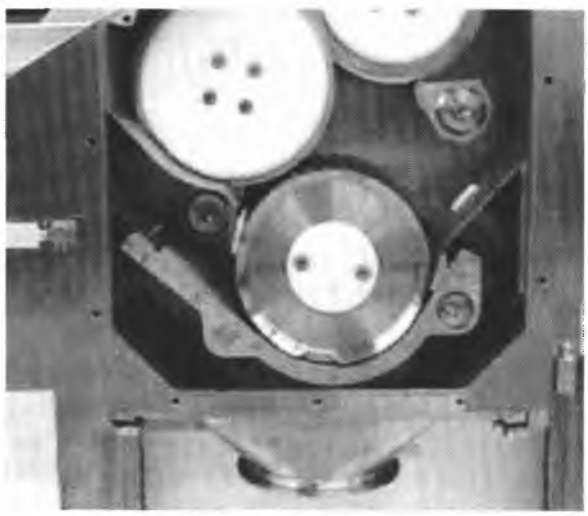


图 19 压缩机附带的筛分系统（来源于 Gerteis Co.）

Fitzpatrick 公司的滚压机（图 20）的特点是两个加料螺杆串联，一个水平，第二个垂直。这个系统是设计来将粉末转移到处于水平方式的悬臂滚筒中，滚筒一个是固定的，一个是浮动的。操作界面允许在线的监测和控制加料螺杆速度、滚筒压力和滚筒间隙。具有比如在线的帮助、诊断、维护和校准等功能。所有的功能均界面化，可通过 PLC 的调整实现工艺控制和生成报告。这个机器具有真空脱气和滚筒冷却的能力。筛分的单元和滚压机相分离，或者是一个转子或者是一个锤击的研磨机。

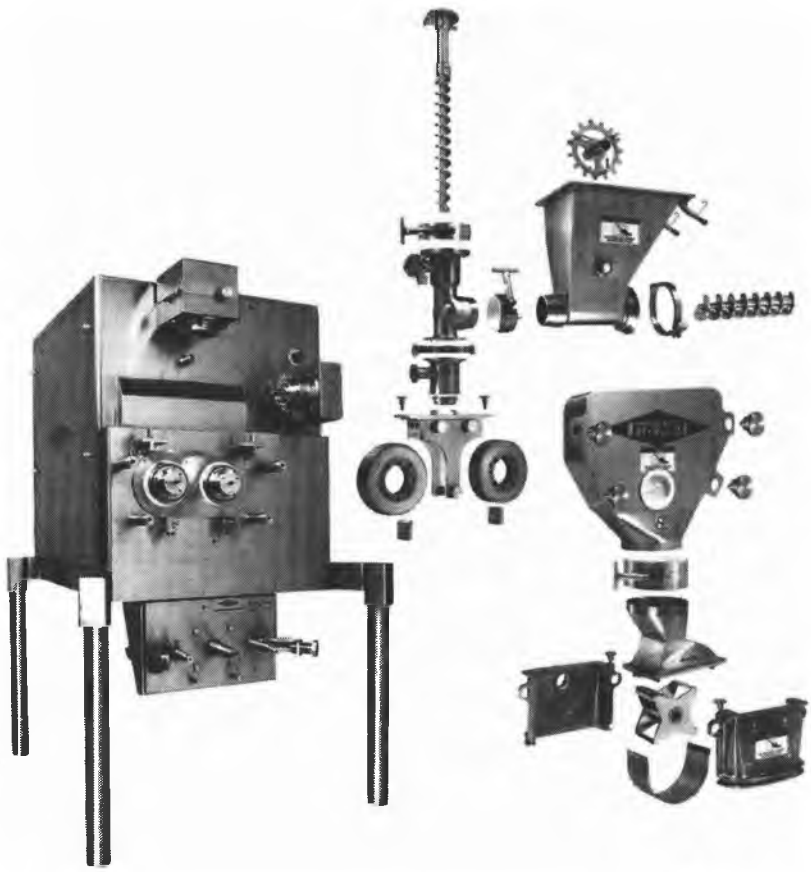


图 20 未装配的滚压机和碾磨机部件（来源于 Fitzpatrick Co.）

Bepex-Hosokowa 公司的滚压机（图 21）由一对滚筒组成，滚筒都是固定的并且不是悬臂的。滚筒安装在固定的轴承块的水平面上的，有一个设定的固定间隙距离。Bepex 滚筒设计是凹面的并且是水冷式的。

一个特殊设计的压制加料螺杆和上臂的装配是和加料斗的内壁十分符合的。这个加料螺杆（通常非圆柱形）有独特的倾斜边缘。加料螺杆设计的特征和其本身的重力帮助粉末原料进入到压实区域。这里没有真空脱气系统。预压和脱气发生在操作时的螺杆加料区。

监测和控制滚筒速度、压力，加料螺杆速度、扭矩是通过 PLC 实现工艺控制中的调节。预碎机和薄片压碎机是附带的筛分功能。具有 CIP 能力。

Vector 公司的滚压机（图 22）由安装在水平面上的悬臂滚筒组成，一个滚筒是固定的，另一个是浮动的。加料螺杆的设计是特殊锥形的，由圆柱形的和非圆柱形的组成。监测和控制滚筒速度、压力、间隙距离，加料螺杆速度和扭矩是通过 PLC 实现工艺控制中的调节。没有真空脱气系统。预压和脱气发生在操作时的螺杆加料区。Vector 滚压机可以用水冷却。加料螺杆设计的特点和重力帮助粉末原料进入到压实区域。

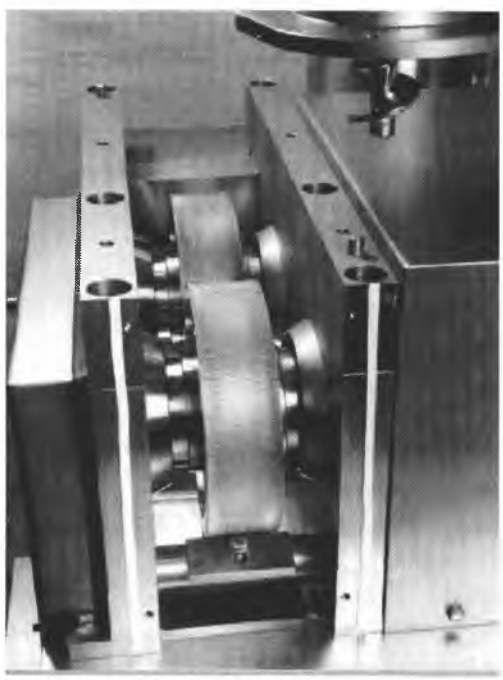


图 21 两个轴承部件上的固定滚筒，滚筒是凹面的（来源于 Bepex-Hosokowa Co.）

Z



图 22 具有一个固定和一个浮动的滚筒的悬臂压缩机，没有附带的真空脱泡和分选设备（来源于 Vector Co.）

参 考 文 献

1. Kristensen, H. G.; Schaefer, T. Granulations. In Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Swarbrick, J., Boyland, J., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; Vol. 7, 121－126.
2. Miller, R. W. Roller Compaction Technology. In Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology; Parikh, D. M., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; Vol. 81, 99－150.
3. Miller, R. W.; Sheskey, P. J. Survey of Current Industrial Practices and Preferences of Roller Compaction Technology and Excipients Year 2000. Am. Pharm. Rev. 2001, 4 (1), 24－35.
4. Capes, C. E. Particle Size Enlargement. In Handbook of Powder Technology; Williams, J., Allen, T., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 1980; Vol. 1.
5. Capes, C. E. Particle Size Enlargement. In Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed.; Grayson, M., Eckroth, D., Eds.; Wiley: New York, 1978; Vol. 21, 77－105.
6. Pietsch, W. B. Size Enlargement by Agglomeration. In Handbook of Powder Science and Technology; Fayed, M., Otten, L., Eds.; van Nostrand Reinhold Co.: New York, NY, 1984; Chap. 7.
7. Pietsch, W. B. In Agglomeration Techniques for the Manufacturing of Granular Materials with Specific Product Characteristics; Roth, D., Ed.; The Institute for Briquetting and Agglomeration Proceedings; Gannon University: Erie, PA, 1997; Vol. 25, 49－164.
8. Sherrington, P. J.; Oliver, R. Granulation; Heyden & Son: London, 1981.
9. Kapur, P. C. Adv. Chem. Eng. 1978, 10, 55.
10. Kristensen, H. G.; Schaefer, T. Drug Dev. Ind. Pharm. 1987, 13, 803.
11. Lindberg, N. Industrial Wet Granulation. Spl. Issue Acta Pharma. Suec. 1988, 25, 185－280.
12. Fonner, D. E.; Anderson, N. R.; Banker, G. S. Granulation and Tablet Characteristics. In Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982; Vol. 2, Chap. 5.
13. Anderson, N. R.; Banker, G. S.; Peck, G. E. Principles of Improved Tablet Production System Design. In Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; Lieberman, H. A., Lachman, L., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1982; Vol. 3, Chap. 1.
14. Ghebre-Sellassie, I. Pharmaceutical Pelletization Technology; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989.
15. Pietsch, W. B. Roll Pressing; Heyden: London, 1976.
16. Parrot, E. L. Pharmaceutical Dosage Forms; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; Vol. 2, 203－204.
17. Dehont, F. R.; Hervieu, P. M.; Jerome, E.; Delacourte, A.; Guyot, J. C. Briquetting and Granulation by Compaction: A New Granulator-Compactor. In Pharmaceutical Technology, Tableting Technology; Wells, J., Rubinstein, M., Eds.; Ellis Horwood: London, 1993; Vol. 2 (Compression), 1－11.
18. Heckel, R. W. Density-Pressure Relationships in Powder Compaction. Trans. Metallurgical Soc. AIME 1961, 221, 671－675.
19. Johanson, J. R. Rolling Theory for Granular Solids. Trans. Am. Soc. Mech. Eng. 1965, 842-848.
20. Jenike, A. W.; Shield, R. T. Plastic Flow of Coulomb Solids Beyond Original Failure. J. Appl. Mech. 1959, 26, 599－602.
21. Parrott, E. L. Densification of Powders by Concavo-Convex Roller Compactor. J. Pharm. Sci. 1981, 70 (30), 288－291.
22. Miller, R. W. Advances in Pharmaceutical Roller Compactor Feed System Designs. Pharm. Technol. 1994, 18 (3), 154－162.
23. Shileout, G.; Lammens, R. L.; Kleinebudde, P. Dry Granulation with a Roller Compactor Part 1: The Function Units and Operational Modes. Pharm. Technol. Eur. 2000, 24－35.
24. Dehont, F. R.; Hervieu, P. M. Briquetting and Granulation by Compaction New Granulator Compactor for the Industry. Drug Dev. Ind. Pharm. 1989, 15 (14－16), 2245－2263.
25. Pietsch, W. Size Enlargement by Agglomeration. In

Handbook of Powder Science, and Technology, 2nd Ed.; Fayed, M., Otten, L., Eds.; Chapman & Hall: New York, NY, 1997; 347—364.

26. Funakoshi, Y.; Asogawa, T.; Satake, E. Use of a Novel Roller Compactor with a Concavo-Convex Roller Pair to Obtain Uniform Compacting Pressure. Drug Dev. Ind. Pharm. 1977, 3 (6), 555—573.
27. Parrott, E. L. Densification of Powders by Concavo-Convex Roller Compactor. J. Pharm. Sci. 1981, 70 (3), 288—289.
28. Jerome, E. Measurement of Resulting Forces on a Roller Compactor. Drug Dev. Ind. Pharm. 1991, 17 (12), 1571—1591.
29. Johanson, J. R. Predicting Limiting Roll Speed for Briquetting Presses. Proceedings of the 13th Institute for Briquetting and Agglomeration, 1975; Vol. 13, 89—99.
30. Sheskey, P. J.; Hendren, J. The Effects of Roll Compaction Equipment Variables, Granulation Technique, and HPMC Polymer Level on a Controlled-Release Matrix Model Drug Formulation. Pharm. Technol. 1999, 23 (3), 90—106.
31. Johanson, J. R. Roll Press Feed Systems. Proceedings of the 24th Institute for Briquetting and Agglomeration, October 1995; Vol. 24, 149—163.
32. Weggel, R. W. The Basics of Force-Feed Roll Briquetting. Manuf. Eng. 1982, 107—109.
33. Guigon, P.; Simon, O. Correlation Between the Geometry of Feeding System and the Stress Distribution Applied on the Compact. In Proceedings of the 27th Institute for Briquetting and Agglomeration, Providence, RI, November 2001; Roth, D., Ed.; Gannon University: Erie, PA, 2001; Vol. 27, 31—41.
34. Johanson, J. R.; Cox, B. D. Fluid Entrainment Effects in Roll Press Compaction. Proceedings of the 20th Institute for Briquetting and Agglomeration, 1987; Vol. 20, 251—263.
35. Dec, R. T. Problems with Processing of Fine Powders in Roll Press. Proceedings of the 24th Institute for Briquetting and Agglomeration, October 1995; Vol. 24, 199—210.
36. Miller, R. W. Using Vacuum-Deaeration Feed System to Minimize Powder Leakage During Roll Compaction. Powder Bulk Eng. 1997, 11 (2), 71—75.
37. Miller, R. W. Vacuum Deaeration Advances in Pharmaceutical Roller Compaction Technology. Proceedings of the 24th Institute for Briquetting and Agglomeration, October 1995; Vol. 24, 165—173.
38. Rekhi, G. S.; Vuppala, M. K. Sizing of Granulation. In Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology; Parikh, D. M., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; Vol. 81, 389—418.
39. Parrot, E. L. Milling. In The Theory and Practice of Industrial Pharmacy; Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L., Eds.; Lea and Febiger: Philadelphia, 1986; 21—46.
40. Johnson, C. Comminution Variables and Options. Powder Bulk Eng. 1989, 3, 40—44.
41. Lantz, R. J., Jr. Size Reduction. Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1990; Vol. 2, 107—157.

（李 翀 译）

Z

Z

制药技术中的二次电镜法

Peter C. Schmidt

University of Tübingen, Tübingen, Germany

电子显微镜的基本原理

1. 介绍

1.1 成像的基本原理

电子显微镜的原理是基于光学显微镜，只是用电子替代了光。任何显微镜的分辨能力都是由 Abbe 方程给出：

$$d_0 = \frac{0.61 \cdot \lambda}{n \sin\alpha}[\mathrm{nm}] \qquad (1)$$

式中：d_0 为能分清两点的最小距离；λ 为光波的波长；n 为物体和物镜间介质的折射指数；α 为物镜对物体的夹半角。

最小分辨距离越小仪器的分辨率越高。因此，分辨率可以通过缩短光波波长、提高物镜和物体之间介质的高折射指数，缩短物体和物镜间距离来增加分辨率。n 和 $\sin\alpha$ 的乘积被称为物镜的数字光圈。由于 α 不可能大于 90°，所以物体在空气中的分辨距离不可能小于 0.61λ。光学显微镜的局限性见表 1。

表 1 取决于波长 λ 的光学显微镜的最小分辨距离 d_0、折射指数 n 和角度 α[1]

波长 λ/nm	角度 α/°	折射指数 n	最小分辨距离 d_0/nm
800	15	1.000[1]	1885
400	15	1.000[1]	942
800	30	1.000[1]	976
400	30	1.000[1]	488
800	60	1.000[1]	563
400	60	1.000[1]	281
800	60	1.516[2]	371
400	60	1.516[2]	185

1）空气。

2）油。

De Broglie[2]证明电子有双重特性，它既可以被当作一个移动的带电粒子，也可以是有特定波长的射线。两者之间的关系如式（2）所示：

$$\lambda = \frac{h}{mv}[\mathrm{nm}] \qquad (2)$$

式中：λ 为波长；h 为普朗克常量；m 为电子的质量；v 为电子的速度。

电子的速度基于外加电压，而且能用来计算波长 λ 和最小分辨距离 d_0，如表 2 所示。

表 2 对于电子显微镜，加速电压下电子速率的变化、波长和最小分辨距离[3]

加速电压/kV	速率/（km/h）	λ/nm	d_0[1]/nm
1	18 370	0.038 76	0.0169
10	58 460	0.012 20	0.0053
100	164 400	0.003 70	0.0016

1）按公式（1），假设 $n\sin\alpha = 1.4$。

与用电子充当光源相比可见光的优点是显而易见的。

1.2 电子成像中的电子种类

当一个电子束和样本表面相互作用，会产生不同的反应。图 1 显示的是初级电子束入射样本表面所产生的不同信号。

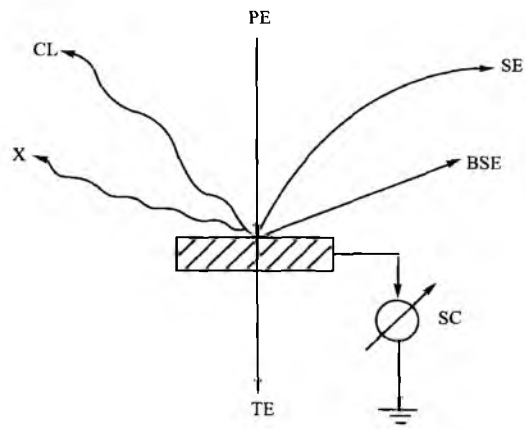


图 1 在初级电子束入射样本表面产生的信号。[4]PE 为初级电子束；SE 为二次电子；BSE 为背向散射的电子；X 为X 射线光子；TE 为透射电子；SC 为吸收电子；CL 为阴极发射光

二次电子：入射电子束和样本表面的撞击产生分离的即所谓二次电子（SE）。二次电子的数量取决于样品的表面形态、加速电压和表面元素的原子数。它们所产生的二次电子的电流信号可被采集，用于成像。

背向散射电子：即从样本表面反射又回到样本表面的初级电子。通过这种独特的冲撞，它们具有的能量水平在入射电子束的全部能量至二次电子能量之间，其强度随着原子数目的增加而增加。它们能够提供样品表面的形貌和元素原子数目的信息。

X 射线光子：即样品经电子轰击放射出的。它们随元素的不同而不同，可以用来测定样品表面的元素分布。

透射电子：即那些穿透薄的样本聚焦成像在荧光屏或

者感光材料上的电子。

吸收电子：一些入射电子被样本吸收并产生地电流。如果没有接地线，样本就会被充电。

阴极发射光：即样本被电子轰击后产生的发射光，为可见光或非可见光。

在多数情况下，二次电子显微镜（SEM）用于成像。背向散射电子检测器用于样本的元素分析，其他的在电子显微镜技术中或多或少应用。在透射电子显微镜（TEM）中，透射电子被用来成像。

2. 二次电镜

在不同的电子显微镜中，比如二次电子显微镜、透射电子显微镜、扫描透射电子显微镜、场发射扫描透射电子显微镜，二次电子显微镜广泛应用于药学领域，其次是透射电子显微镜。本文仅涉及二次电子显微镜的原理。

SEM 的设计见图 2。

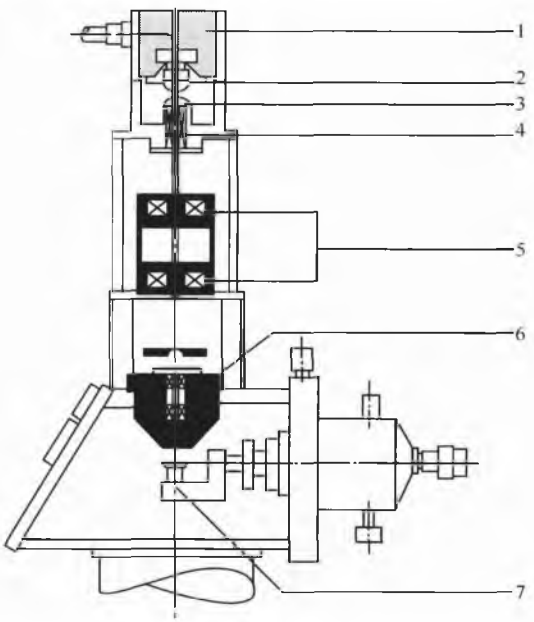


图 2 SEM 的设计[4]。1 电子枪；2 控制电极；3 阳极；4 束调节线圈；5 聚光镜；6 物镜；7 样本台

SEM 仪器上部包括电子枪、控制电极、阳极和束调节线圈，聚光镜、光圈、物镜以及用于电子束聚焦的样本台。样本台可以在样品室内沿 X、Y、Z 方向移动。另外，样品可以旋转移动。图 3 显示电子束的产生。

电子由阴极灯丝发射，通常是加热的钨丝，发射电子的电流由控制电极控制，有与阴极相反的极性。电子经过 1～25kV 的电压加速后被阳极所捕获。阴极组件和阳极的排列使得电子束在两者之间交叉。穿过阳极的孔电子束进入两个电磁聚光镜，来减少交叉。穿过光圈后，电子束被物镜聚焦在样本表面成像。

如图 4 所示，样本由电子束逐点扫描。从样本表面激发出的二次电子被检测器收集，经过影像处理把图像显示在显示屏上成像。

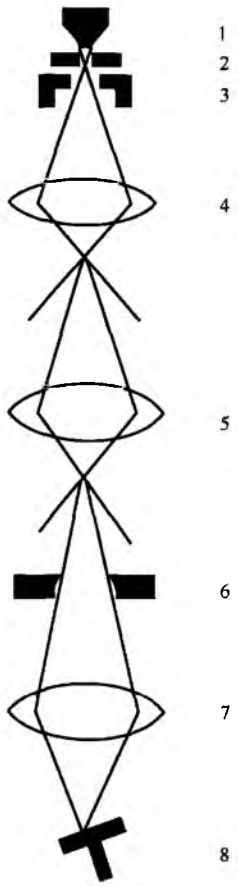


图 3 经修改的电子束排列[4]。1 阴极；2 栅极；3 阳极；4、5 电磁聚光镜；6 光圈；7 物镜；8 样本表面

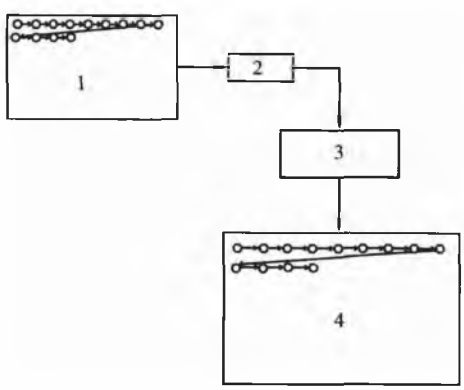


图 4 二次电子显微镜扫描模式的原理[4]。1 样本表面；2 检测器；3 影像处理；4 监视屏

电子束通过集成在物镜中的电磁偏转系统在样本表面移动，如前所述的在样本表面上快速移动。偏转系统由两套交叉鞍状线圈沿 X、Y 轴方向转动，鞍状线圈在最低的放大倍数下产生不扭曲的图像且允许大的偏转角度。

二次电子检测器（图 5）安装在显微镜聚光器的边上。

Z

入射电子从样本表面释放二级电子，被拥有正电压的收集器所收集。电子穿过栅格向闪烁器移动。加压到10kV使低能量的二级电子加到更高的能量等级。这些电子撞击闪烁器，产生光子，然后从检测器室通过光导线导出到光电倍增器。光电倍增器通过放大器将光电流又转成电子流，在后面的前置放大器输出端显示图像信号。如果收集器为负电势，只有背向散射电子能击中闪烁器，那么背向散射电子图像以这种模式产生。

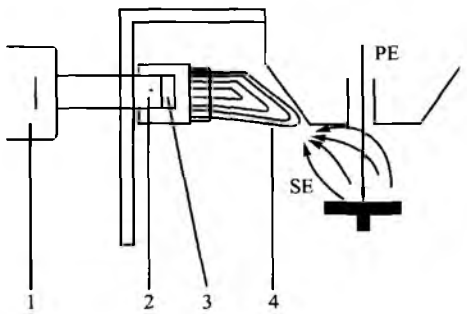


图5 次级电子检测器[4]。1光电倍增器；2光导线；3闪烁器；4收集器；PE是入射电子束；SE是二次电子束

电子只有在真空条件下才能长距离移动，因此整个系统操作必须在$10^{-5}\sim10^{-7}$hPa（百帕）下进行。真空系统包括一个机械泵达到10^{-3}hPa，及一个能够达到所需高真空的水冷涡轮分子泵。在一些仪器中，采用油扩散泵替代涡轮分子泵。自动控制确保系统在无水和低真空时不能运行。

扫描电子显微镜的样本准备

1. 介绍

在制药技术领域，采用扫描电镜进行研究的大部分样本是以不同方法制备出的粉末、颗粒、丸剂、片剂和包衣膜层。从原材料准备样本包括以下步骤：

（1）从大量材料中选取有代表性的样品；

（2）将样本置于合适的样本载台上（样本）；

（3）如样本自身不导电，需经涂层后才能进行观察。

在制药技术中，原材料的量很大，而用于电子显微镜成像观察仅需采用很少量的样本，所以取样程序本身和最后样本的制备就变得非常重要。Sommer[5]对样本制作程序进行了总结。粉末取样的过程见图6。

从原包装内取出样品通常是手工进行的。根据包装的大小，应从包装内的不同部位来获取样本，然后在取样前将它们混合均匀。如今，这些取样过程可采用旋转式样品分配器等机器进行。

根据混合样品的量，必要时还需经多个步骤来完成该过程。最终使样本量达到可直接用于显微镜检查的要求。

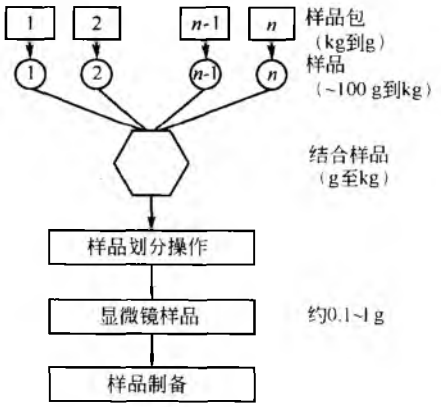


图6 将样品制成可供显微镜检查的小样品的取样过程

2. 扫描电子显微镜的样本制备

在制剂技术中，大多数用扫描电子显微镜检查的样品是粉末。在取样程序以后，最后的样本必须被均匀地分布到样品台上，如果它不能导电，就覆盖上导电材料薄层。样品台通常是铝制的针状蘑菇型或者圆筒形。在我们的大多数工作中，会使用SEM附件所提供的金属铆钉代替贵重的铝样品台。样品台必须用表面活性剂清洗，然后经蒸馏水和丙酮在超声波清洗槽内清洗。最后残留的丙酮用电吹风吹干。样品台的表面覆一层双面胶。胶的导电性通过采用一小滴导电银溶液完成，导电液在胶与样品台之间。粗粉直接撒在准备好的样品台上，细的粉末必须分散不能成块结团。根据聚集的程度，可用气流将材料吹在样品台上或者采用真空吸管来完成。此外，Sympatec-Helos粒径测定仪的[6]“Rhodos”干粉分散器可用于在样品台上吹散粉末。另外一些样本如片剂、包衣片、丸剂、胶囊、包装材料和注射器针头可直接用含银导电膏放在样品台上，用机械和电动加压方法将样本压在台上。其他制样方法读者可以参考专业著作[7]。

入射电子束的一部分，总能量为$10^{-12}\sim10^{-6}$A，作为二次电子或者背向散射电子电流发射出。两种电流的差别必须通过样品台接地去除，否则样品将被充电。如果样本本身不导电，就必须在表面喷镀一层导电膜。只有在低加速电压（1kV范围）下样本不需要导电。镀膜层为真空下用碳、金/钯或者白金经蒸发喷镀而形成，或者用直流溅镀法制作。后者更加普遍且更容易为样品制作导电涂层。溅射法的原理见图7。

该装置包括一个真空室，一个阴极，一个阳极。室内的气体用惰性气体取代，最好为氩，系统电压为1.0～2.5kV。在这种条件下，发光放电在阴极和阳极间产生。惰性气体原子离子化将氩气离子和电子充正电。离子被阴极吸引，其从阴极材料放射出一个金原子和一个电子。电子和氩气离子惰性化，金原子向阳极移动，在途中和很多气体原子产生撞击，最终大量金原子从不同方向到达阳极

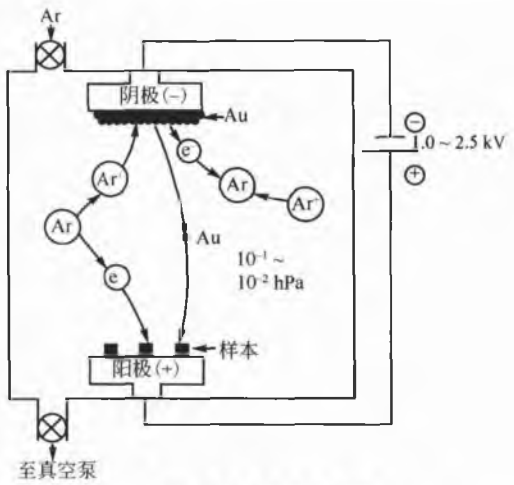


图 7 阴极溅射法的原理

的样本上。自由电子亦朝阳极方向加速，到达阳极后在样本表面产生热量。

过程本身以及在样本表面形成的金属沉积物由目标材料、室内惰性气体的类型和压力、阴极电压、电流、溅射时间、目标间的距离以及样本所决定。推荐使用氩气，因其在惰性气体中最便宜。因为空气能使金属氧化，比如金，所以不能使用。涂层发黑时表明溅射时有空气存在。用氩气溅射时，金、银的散发率比碳高。涂层的厚度由溅射速率、样品和目标间的距离以及时间决定。在恒定的条件下金层的厚度和溅射时间呈线性相关。

涂层的质量取决于它在样本表面的厚度的均匀性、对样本表面的黏附性和机械稳定性。表面平整则涂膜厚度较均一，表面不平整时，要使镀膜厚薄均匀，金属原子要向各个方向溅射。这可以通过用真空来预先确定。最适合的镀膜的厚度是使样本表面既有良好的导电性，又保存了表面精细结构。如果导电性不够高，样本就会出现充电现象。一般镀膜的厚度在 1～2nm 就足够了。

二次电镜在制药技术中的应用

SEM 在制药技术中应用广泛。任何配方的固体原料以及混合粉末、颗粒、丸剂、片剂、包衣膜、气雾和冻干剂、微粒、脂质体、包装材料都可通过扫描电镜进行观察。然而有些文章仅涉及用 SEM 研究原料和其他材料[8~10]，还没有关于 SEM 用于制药技术的综述。本文试图填补相关文献资料的空白。以下的例子是我们自己 13 年来进行的试验，尽管没有覆盖整个领域，但可以证明通过显微镜可以解决制药技术的很多问题。

1. 起始原料

1.1 填充剂/黏合剂

填充剂/黏合剂用于片剂的压制。对这些材料的要求 Khan 和 Rhodes 进行了总结[11]。评价填充剂/黏合剂的一个重要的因素是所谓的稀释潜力，即按照之前确定的标准，加入一定数量的能被填充剂/黏合剂吸收的活性成分来压片。

填充剂/黏合剂属于以下几类物质：微晶和粉状的纤维素、乳糖、磷酸盐，尤其是磷酸钙盐、糖醇和所谓的复合材料，后者是特别设定的组合物，用于直接压片[12]。下面的图 8～13 显示填充剂和黏合剂不同的放大倍率。图 8（上图）描述了 Vitacel。这种纤维结构在所有这类产品中是典型的，和下面显示的磷酸钙盐显著不同。中间的 Bekapress D2 由小团块结合，Dicaphos AN 聚集成程度较大。图 9 显示了两种磷酸三钙。从结晶学上说两者都是羟磷灰石，上图为喷雾干燥的产品，为典型的圆形颗粒，由极小的晶体构成，下图为干法制粒的颗粒。有关磷酸钙盐的详细描述见相关文献[13~16]。

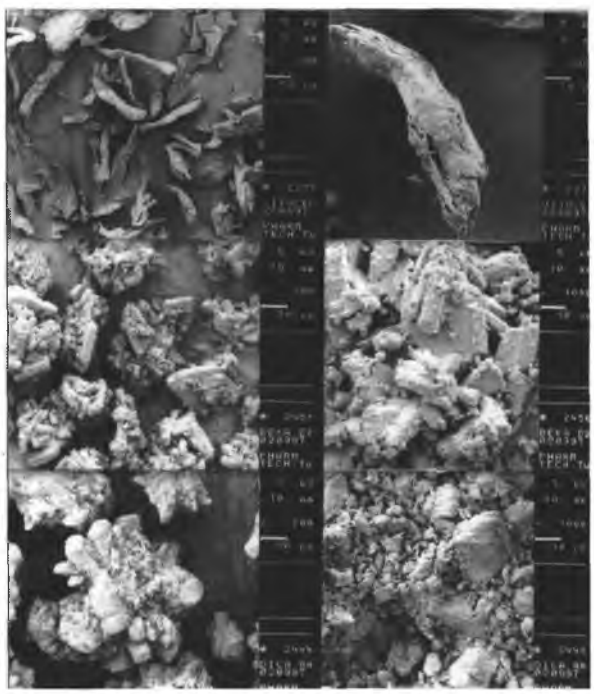


图 8 Vitacel（上图），Bekapress D2（中图）和 Dicaphos AN（下图）

图 10 显示了三种不同的乳糖。典型的楔形的 α 乳糖-水合物（上图）和干压法的 β 乳糖（中图）、球形的喷雾干燥的乳糖（下图）有显著的差别，这就显示了由于它的聚集形式和 8%～15% 的不定形乳糖含量，有着最高的可压性[17]。

Z

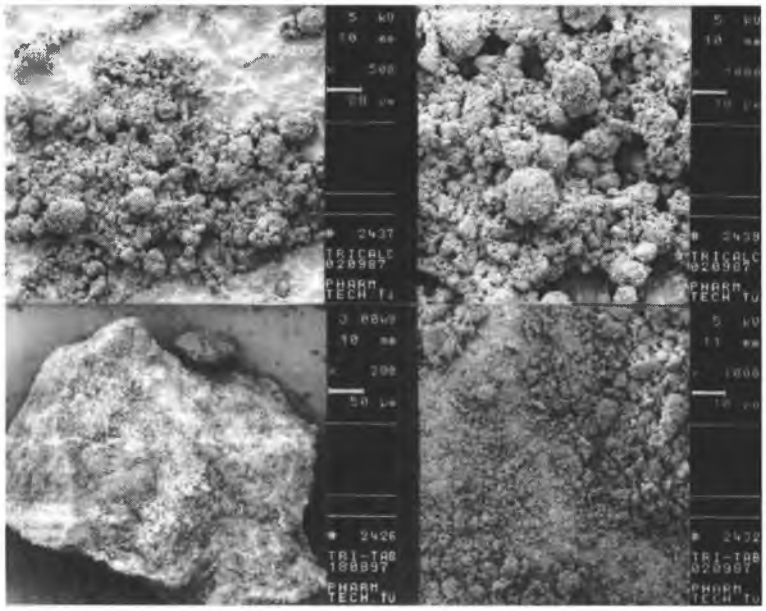


图 9 磷酸三钙（羟磷灰石）。一种喷雾干燥产物 Tricaphos（上图）和干压法制备的 Tritab（下图）

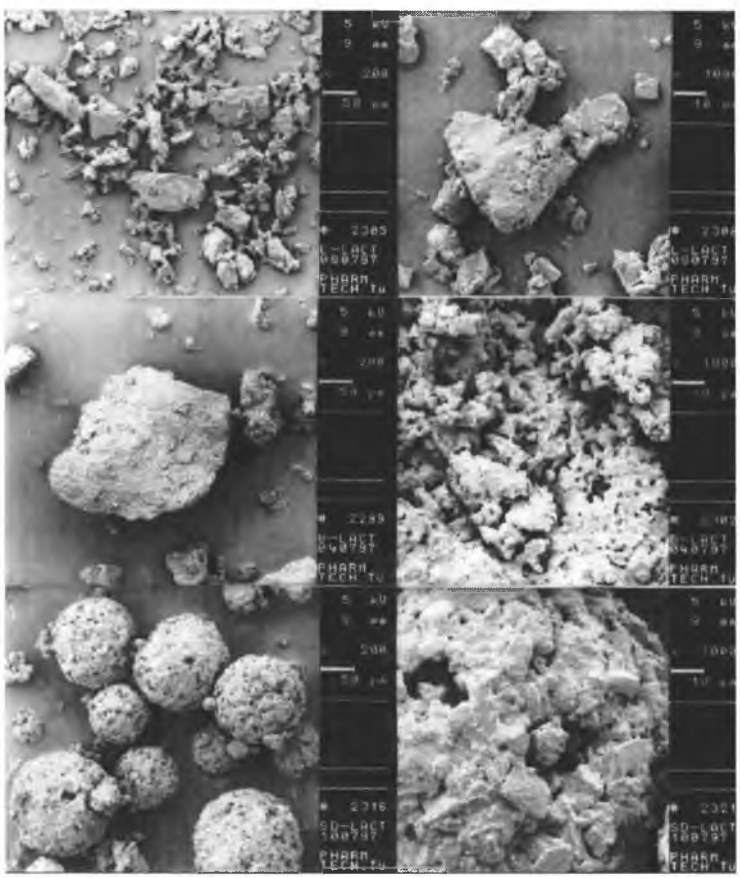


图 10 乳糖。α乳糖一水合物（上图），β乳糖（中图）和喷雾干燥乳糖（下图）

蔗糖醇、甘露醇和山梨醇经常被用来制备口腔和舌下片剂和锭剂。图 11 显示结晶（上图）和喷雾干燥的产品（中图）在形态学上的区别。山梨醇的 γ 多晶型用于直接压片，被看成为片剂辅料中的变色龙。喷雾干燥的速溶产物（下图）有不规则的形状，放大以后呈针尖状。融熔法所得的产物（图 12 的左上图）和结晶的产物（右上图和左下图）一样有更规则的形状。放大后，后者显示和喷雾干燥的山梨醇完全不同的结构[18~20]。

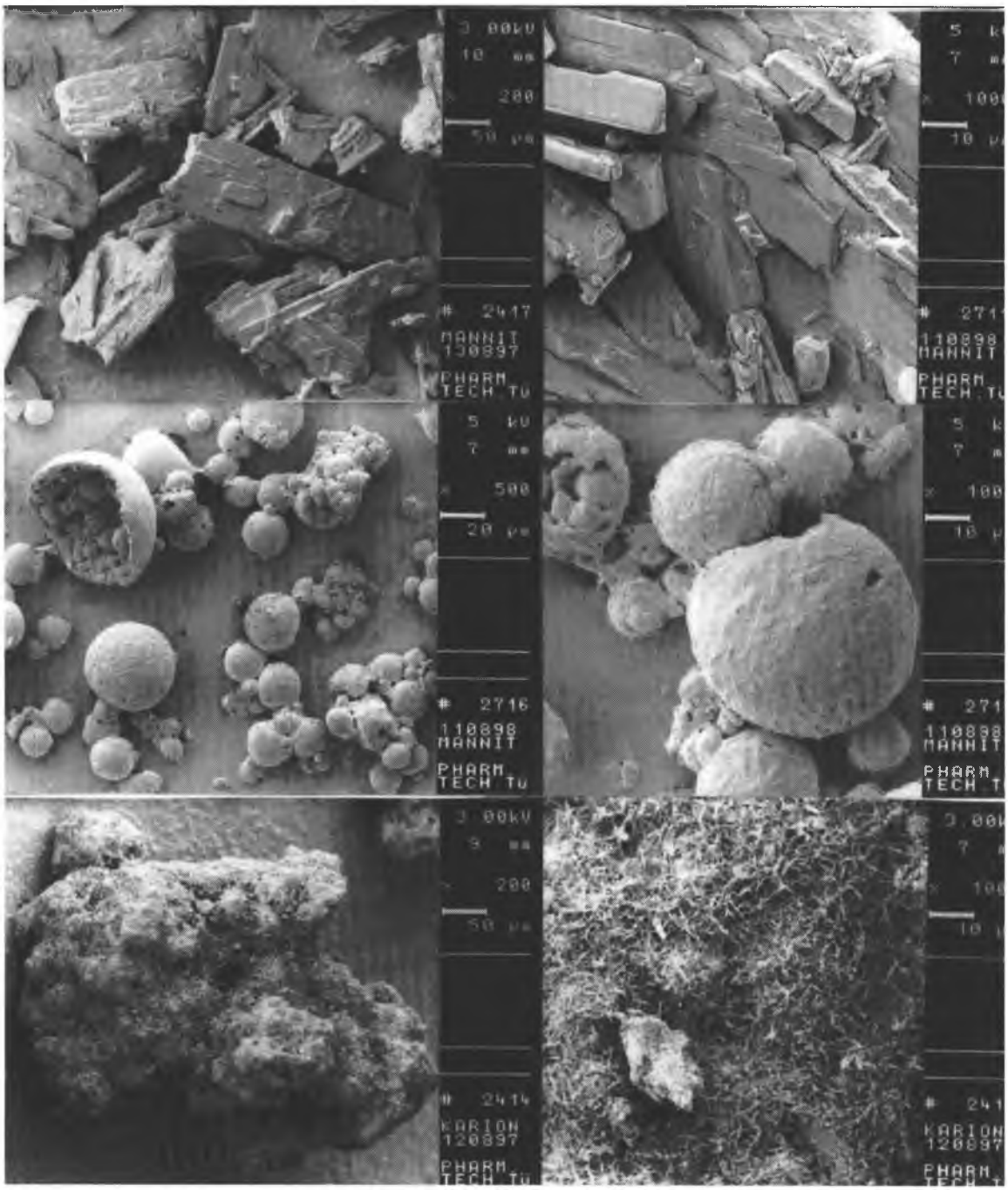


图 11 糖醇。晶体甘露醇（上图），喷雾干燥甘露醇（中图）和喷雾干燥法制成速溶山梨醇（下图）

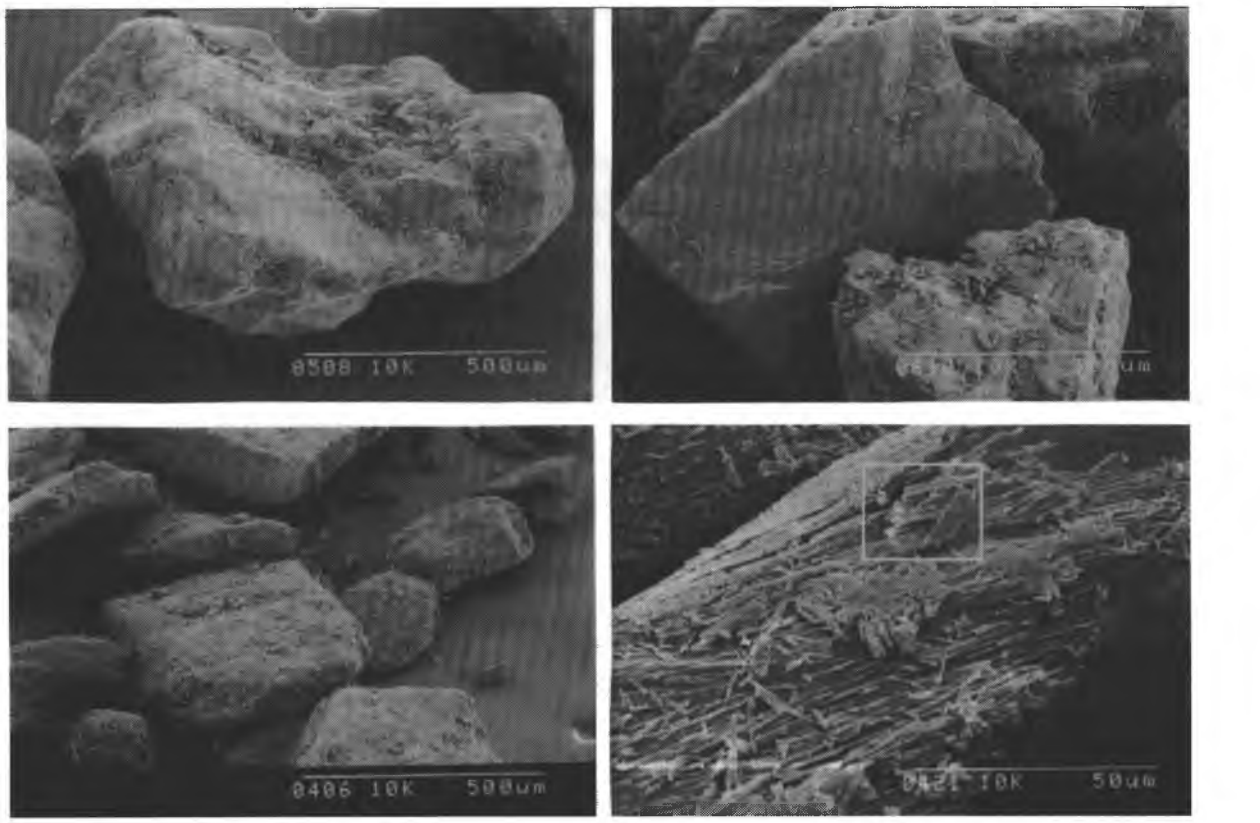


图 12 山梨醇的不同类型

图 13 显示三种共同处理材料的 SEM 照片[21]。Ludipress，主要含 α-乳糖一水合物，显示圆形的团块，Cellactose 含有 25%粉末状纤维素，由乳糖团块组成，纤维素像触须一样突出。Avicel PH 200，纯微晶纤维素是不规则团块状物[22]。



图 13 Ludipress（93% α-乳糖一水合物，3.5%可溶性的聚乙烯吡咯酮，3.5%交联聚乙烯吡咯酮）（上图），Cellactose（75% α-乳糖一水合物，25%粉状纤维素）（中图）和微晶粉末纤维素 Avicel PH 200（聚集的微晶纤维素）（下图）

这些材料的可压性和硬度是相似的，然而 Cellatose 在压力超过 100MPa 时崩解时间明显增加，见图 14[23]。

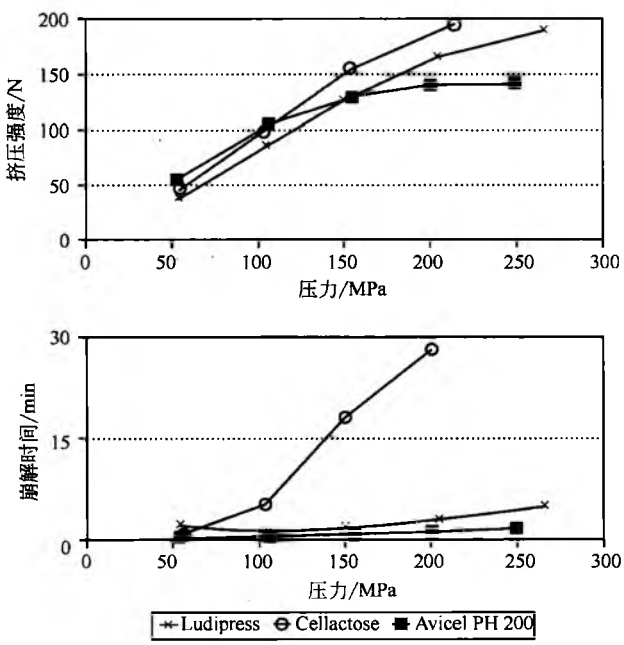


图 14 共处理物质 Ludipress、Cellactose 和微晶粉末纤维素 Avicel PH 200 的压力-硬度曲线图（上图）及压力-崩解曲线图（下图）

1.2 崩解剂

淀粉用作片剂的崩解剂，胶化后在颗粒中作为黏合剂，喷雾干燥中作为载体，在外用粉末中作为填充物和吸湿剂。作为崩解剂在片剂处方中用量很大，从10%～15%。图15显示大米（上图）和小麦（中图）淀粉的两种不同放大倍率。左下显示土豆淀粉（一种最常用的淀粉），同时还用一种埃塞俄比亚叫做Enset false banana的植物的淀粉，与土豆淀粉颗粒大小相近，但形状显著不同[24]。

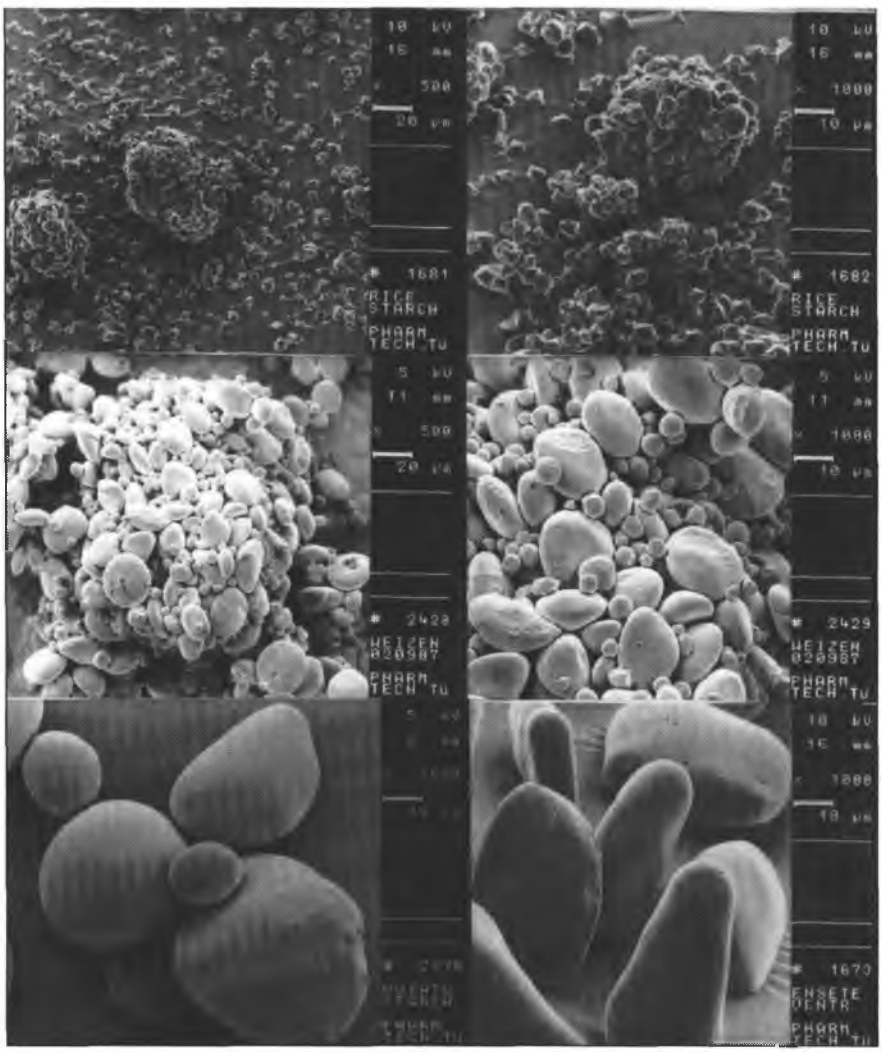


图15 药剂学中使用的淀粉。大米淀粉（上图）、小麦淀粉（中图）、土豆淀粉（左下图）和enset淀粉（false banana）（右下图）

除了淀粉，由淀粉衍生的羧甲基淀粉钠（Primojel，Explotab）因为其很强的崩解能力，可用作崩解剂。虽然两者在上是相同的，它们在显微镜下的行为是不同的（图16上图），Primojel有光滑的表面，Explotab有粗糙的表面，源于它们不同的制备方法，也导致了崩解作用的差别[25]。

纤维素衍生物如Ac-di-Sol和E. C. G. 505被称为“超级崩解剂”[26,27]，它们的显微镜图像和纤维素纤维是相同的，这些原料是不能用显微镜检查来区别的。

1.3 润滑剂

在润滑剂中，硬脂酸镁是最广泛应用的一种。它存在不同的晶型，显示出不同的粒径和形状，且存在几种水合物型[28,29]。Delacourte等[30]对它的润滑效果进行了描述。片状的看来更有优势，混合时间延长时，硬脂酸镁可在其他片剂辅料上形成薄膜，使药物释放时间延长[31]，硬度减低，崩解时间增加[32,33]。为了比较，图17显示的是砷酸钙和滑石粉，砷酸钙结构与和其他的都不同，不是片状，而为微粒状结构。

滑石粉的润滑能力和硬脂酸镁比较稍差，虽然显微镜下两者是相似的[34]。

Z

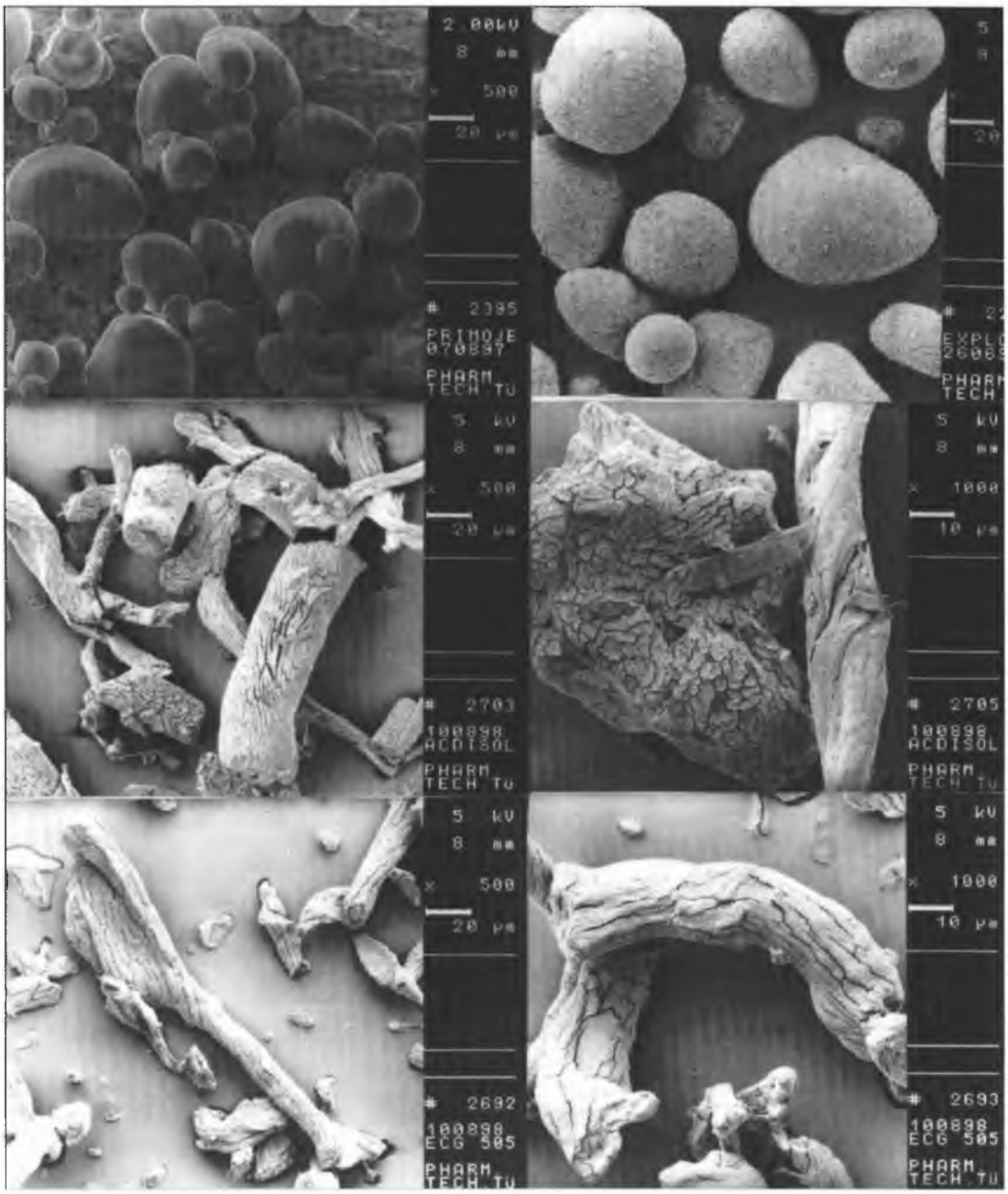


图 16 崩解剂羧甲基淀粉钠（左上图为 Primojel、右上图为 Explotab），交联羧甲基纤维素（中图）和羧甲基纤维素钙（下图）

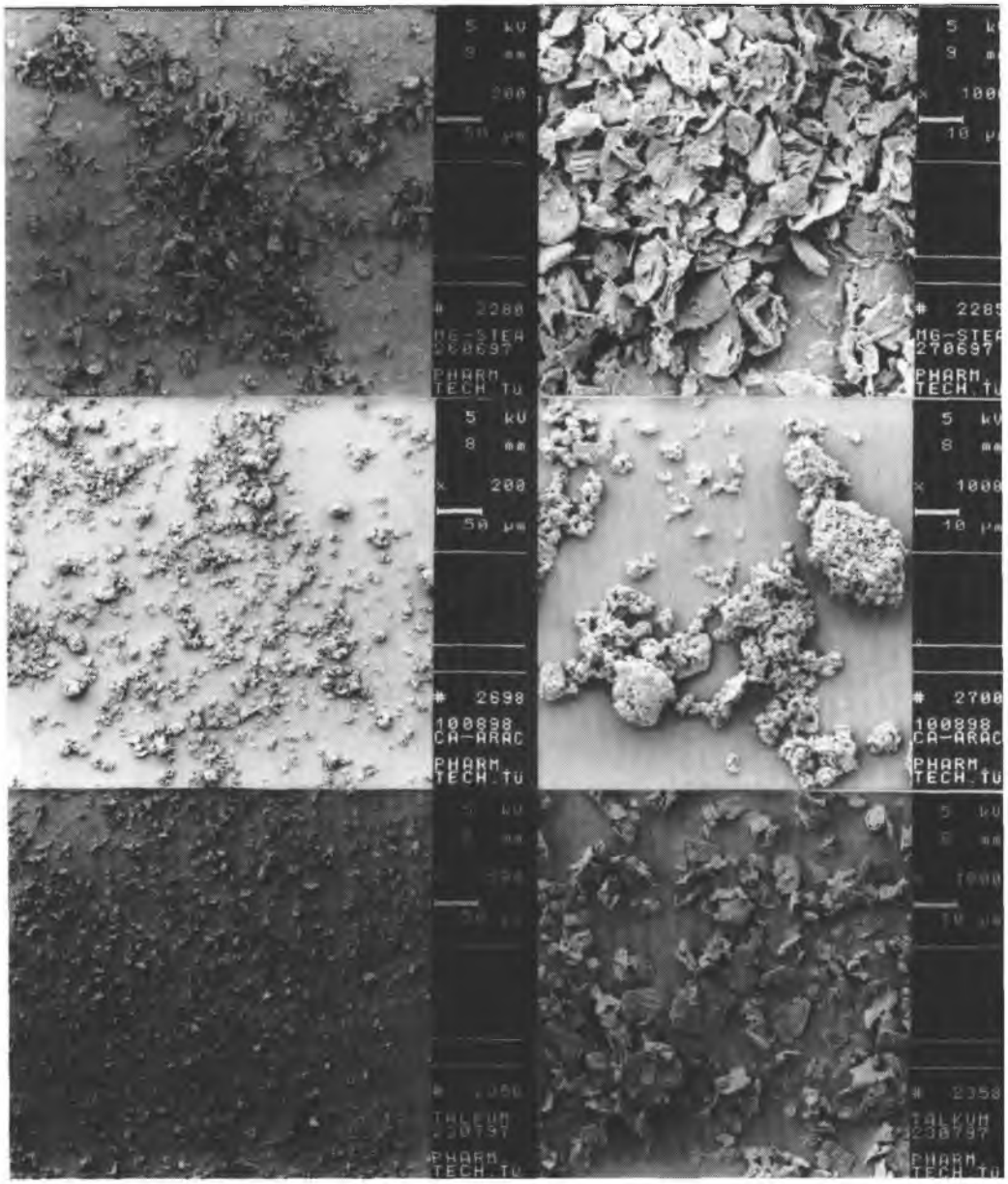


图 17 润滑剂。硬脂酸镁（上图）、砷酸钙（中图）和滑石粉（下图）

2. 混合粉末

混合粉末可以是随机[35~39]或者“有序”的混合物[40]。事实上它们不是很高程度的有序，故后者又称为“交互作用”的混合物[41]。交互的混合物的混合均匀性不如随机混合的好，它促进精细组分与粗载体之间相互作用而使整个系统更为稳定。药剂混合粉末经常在随机和交互混合物之间，其交互作用的程度取决于下述指标：

（1）黏附性细粉末的颗粒大小；

（2）粗载体的颗粒大小和表面结构；

（3）“细颗粒”之间的内聚力；

（4）粗载体和“细颗粒”之间的黏附力；

（5）粗、细颗粒的数量关系。

下面这个例子是交互混合粉末[42,43]。图 18 的左上图显示的为氯化钠晶体，当氯化钠与 16% 的微粉化的盐酸伊替福林混合，形成了部分交互的混合粉末（图 18 右上图和下图）。微粉化活性成分特别容易黏附到晶体的不规则处。在这些部位堆积了多层盐酸伊替福林颗粒。当用乳酸作为载体代替氯化钠时，情况改变了（图 19）。由于晶体更加不规则，可观察到有更多的细颗粒黏附（中图）。下图为倍数放大的图像，再次显示细颗粒在不规则晶体上的聚集。而用山梨醇作为载体能有特殊的效果，速溶山梨醇通过喷雾干

Z

燥及随后的速溶化制成。图 20 显示这种微粒的不规则形状和粗糙的表面。将这个产品和 16%盐酸伊替福林混合的结果是药粉向山梨醇颗粒的凹陷谷底部位黏附。放大图像显示喷雾干燥的山梨醇的纤维结构和微粉化药物颗粒。当采用 16%微粉化的盐酸普萘洛尔代替盐酸伊替福林作为混合的活性成分，可看到山梨醇颗粒被完全覆盖。由于普萘洛尔有更高的黏附性和内聚倾向，填满山梨醇谷后，就覆盖了山梨醇颗粒的整个表面。

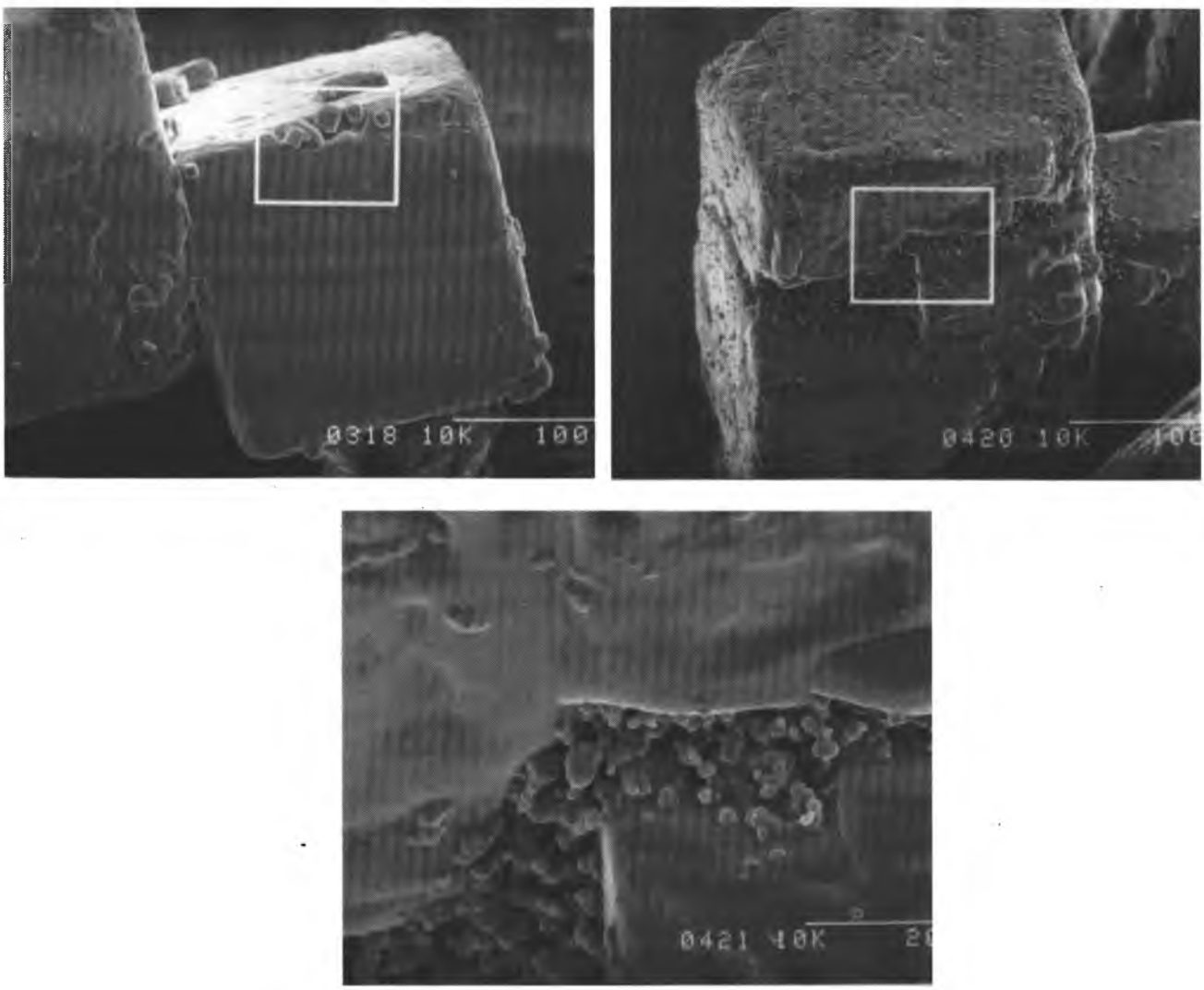


图 18 氯化钠（上图）和微粉化盐酸伊替福林间的部分交互的混合粉末。
下图是中间图片的局部放大；盐酸伊替福林在方形的氯化钠方形结晶的不规则处沉积

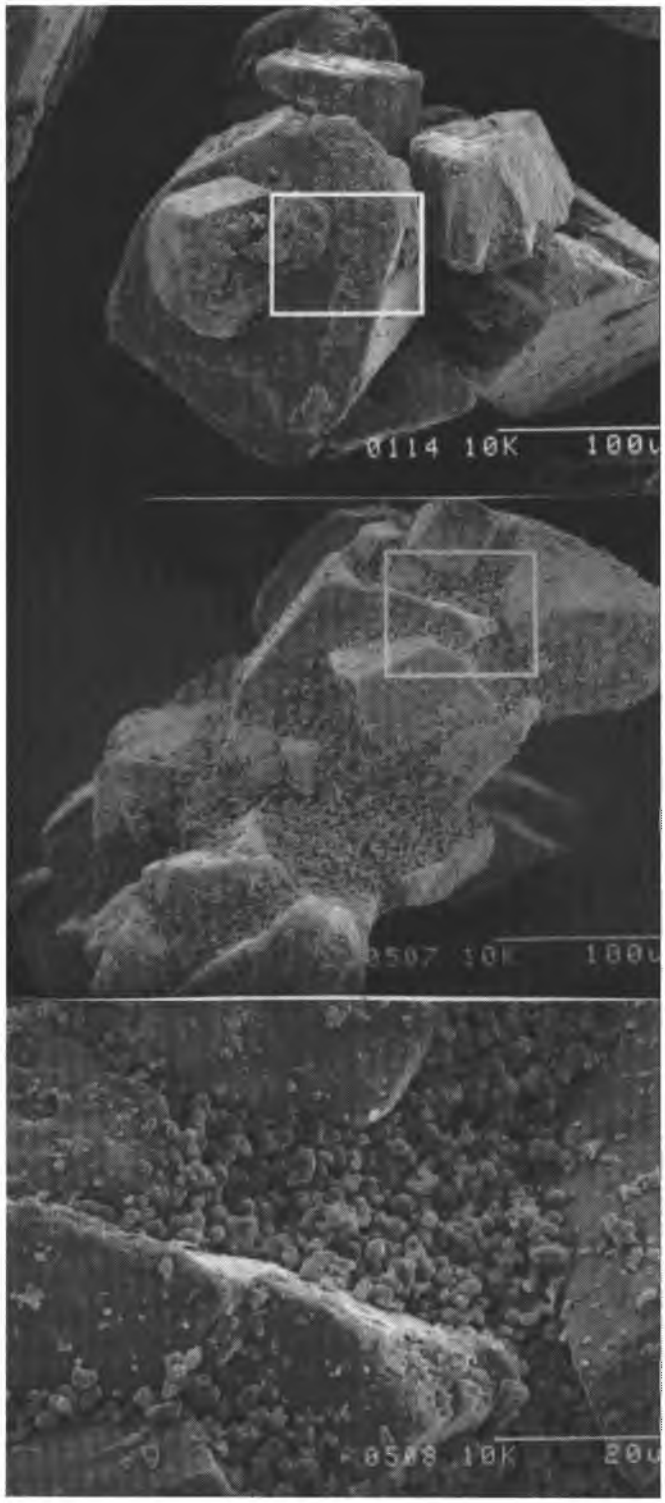


图 19 乳糖（上图）和微粉化的盐酸伊替福林福林交互混合物。下图是中图的局部放大；由于存在更多的不规则结晶，盐酸伊替福林在载体上的黏附性更高

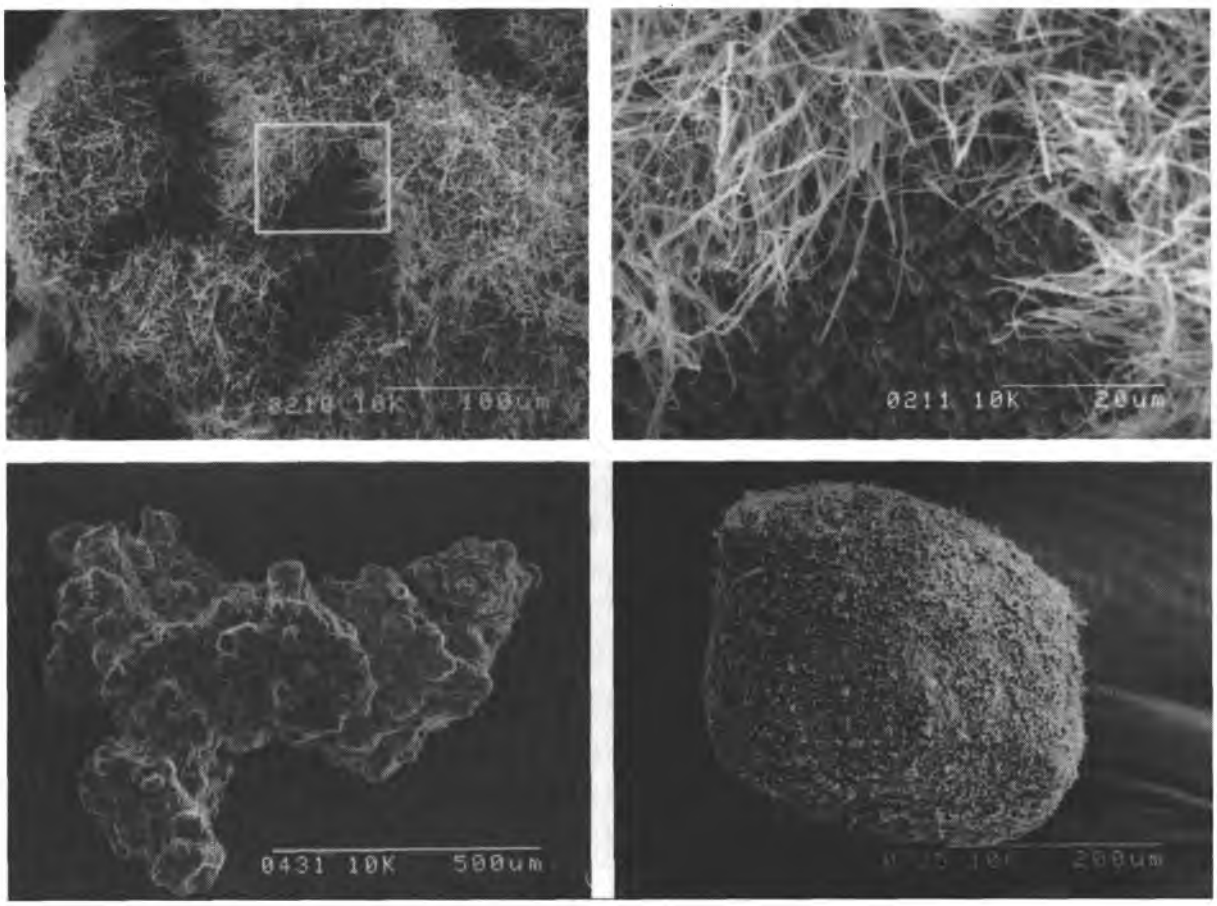


图 20 与作为载体的山梨醇的交互混合物。山梨醇与 16%微粉化盐酸伊替福林的部分颗粒（左上图），左侧的剖面图显示的是细山梨醇针状体和伊替福林的微粉颗粒（右上图）。速溶纯山梨醇（左下图）和含 16%普萘洛尔的山梨醇（右下图）

3. 干糖浆制剂

干糖浆制剂是粉末或颗粒剂，用于复溶。服用前加液体（通常为水）到一定体积即可。制备和存储过程中为固体，服用时为溶液或者混悬液。生产干糖浆的主要原因是这些活性成分在液态时不稳定，在配成溶液或者混悬液后只能在一段有限的时间内使用。大多数以干糖浆为剂型的药物属于抗生素类。干糖浆的生物利用度比油剂更高[44]。除了活性成分，这种制剂[45]包括载体（如蔗糖、山梨醇、木糖醇。这些也可作为甜味剂，微晶纤维素和淀粉），增黏剂（主要是黄原胶），人造甜味剂，防腐剂，湿润剂和螯合剂，及缓冲物质。它们可以制成混合粉末，完全或者部分制粒的产品，及包衣的粗载体。图 21（左上图）显示一个混合粉末的例子，含有阿莫西林三水合物和克拉维酸。许多不同尺寸和形状的小微粒提示为混合物。右上图显示一个含有头孢克肟三水合物的部分制粒的产品，除了小微粒外，还可以见到颗粒。用乙酰半胱氨酸制备的颗粒状干糖浆显示在左下图，部分聚集的包衣载体含盐酸溴己新和头孢克洛一水合物（右下图）。四种处方中三种以黄原胶作为增黏剂。

4. 丸剂

丸剂主要有四种制备方式：粉末上样，旋转流化床，挤出/滚圆，和聚集成团法。最老的方法就是所谓的“粉末上样法”[46]，该法中晶种用黏合剂溶液润湿，随后上细粉。干燥后，再润湿上样。这种类型的丸剂特点是有一个核相当于晶种，外包细颗粒。图 22（上图）显示了这种丸剂。

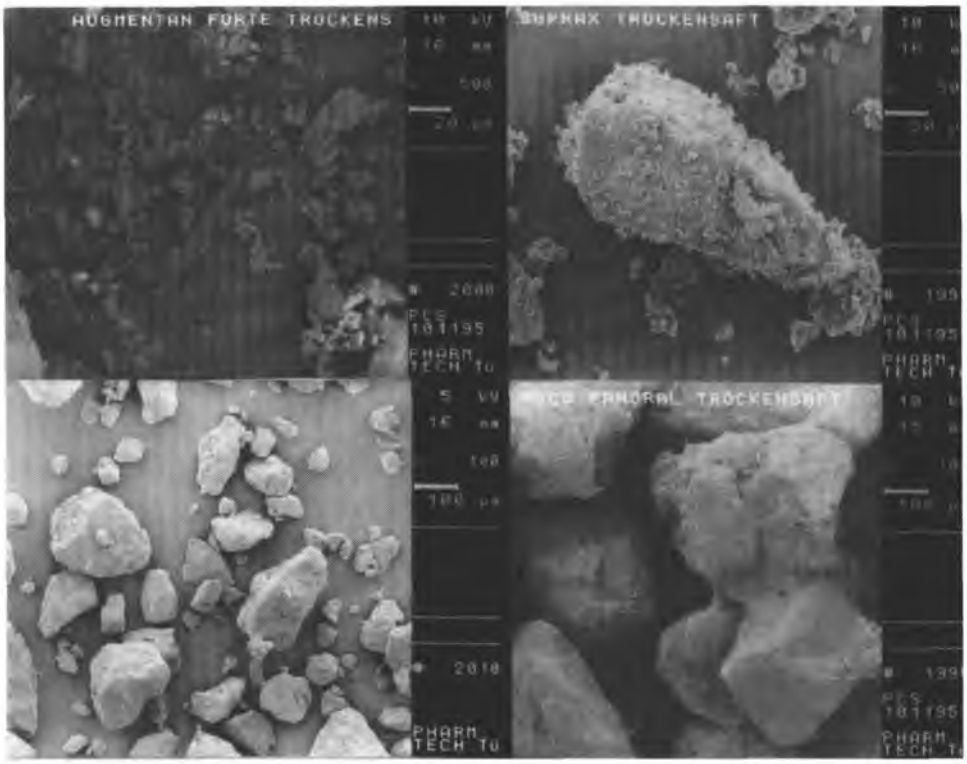


图 21　干糖浆制剂。粉末混合物（左上图），部分制粒产品（右上图），制粒产品（左下图），部分聚集的包衣结晶（右下图）



图 22　不同方法制得的丸剂。粉末上样（上图）、挤出/滚圆（中图）法制得的丸剂的形状和大小（下图）

通过挤出/滚圆工艺制得的丸剂[47]有着均一的横截面[图 22（中图）]，但是在形状和大小上有轻微不同，这就源于挤出之后的滚圆工艺［图 22（下图）］。与粉末上样制备的丸剂相比它们更硬。其外表和通过用被称为“旋转流化床”制得的丸剂是相似的[48]。由于需要理想的圆形丸剂，有人尝试来量化圆整度[49,50]。球形聚集是一种完全不同的方法，来制备圆形和均匀大小的丸剂，该法中颗粒在混悬液中凝聚[51,52]。

制得的丸剂是圆形且大小一致［图 23（左上图）］；用细粉制备的维生素 C 丸剂的平均直径是 3.0μm［图 23（右上图）］。将原料的粒径增加到 8.8μm，丸剂的表面就变得更粗糙［图 23（左中图）］。在制备过程中加入 2% 的聚乙烯吡咯烷酮可以得到更光滑的表面［图 23（右中图）］。原料细粉的直径3μm可以更光滑的表面［（图 23（左下图）］，再加入 2% 聚乙烯吡咯烷酮能得到更光滑的表面［（图 23（右下图）］。这个例子清晰地说明在球形结聚工艺中，正确地选择原料的粒径以及添加聚合物可能改善制得的丸剂的表面[53]。

Z

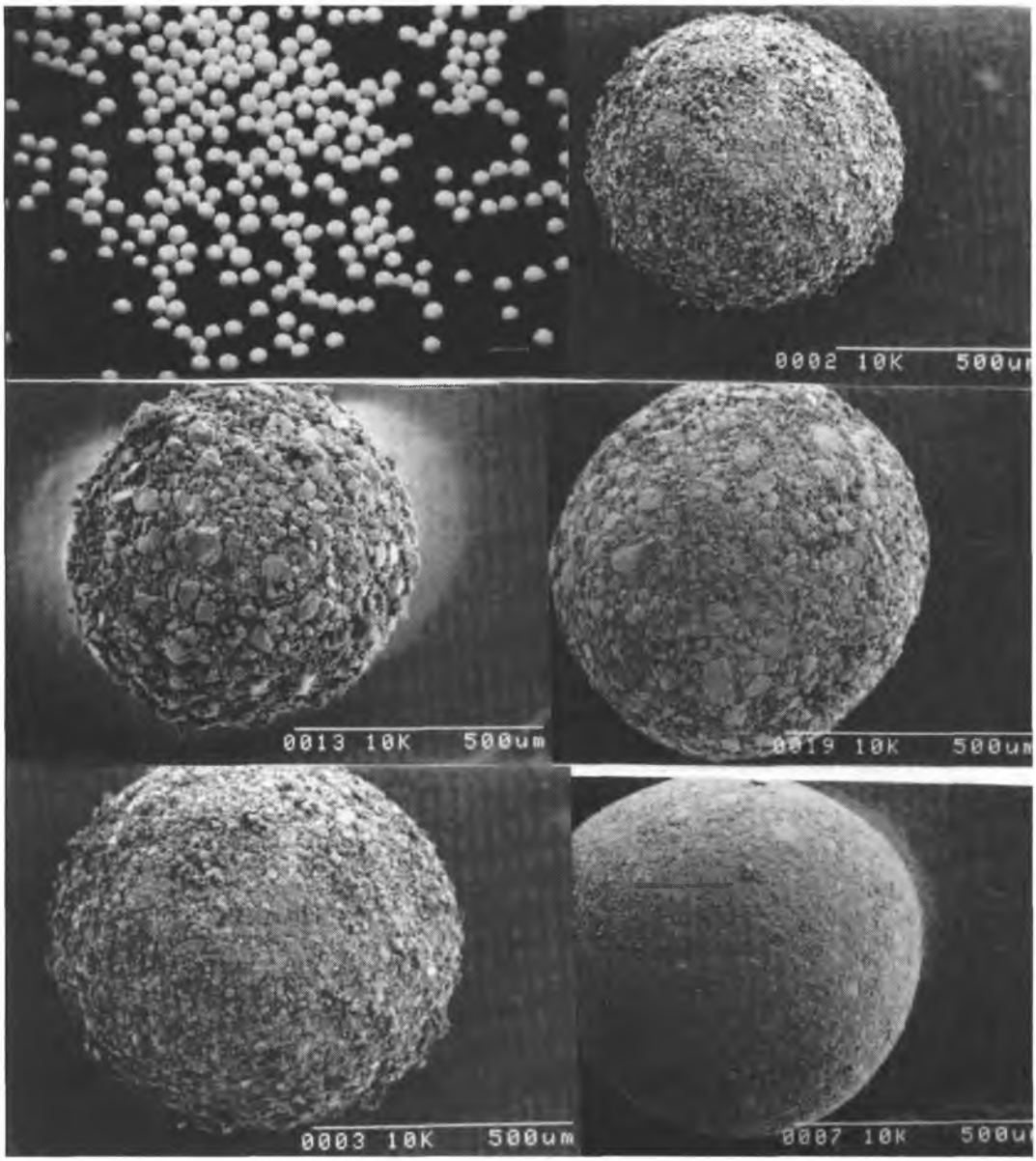


图 23 球形结聚工艺制备的丸剂。平均粒径 8.8μm 的维生素 C 细粉制得的丸剂，刻度为 1mm（左上图）；不加 PVP 制得的丸剂（左中图）；加 2%PVP 制得的丸剂（右中图）；平均粒径 3.0μm 的维生素 C 细粉制得的丸剂（左下图）；加入 2%PVP 制得的丸剂（右下图）

5. 片剂

扫描电子显微镜广泛应用于片剂的结构研究。Hess[54] 发表了一篇极好的综述。片剂成像是揭示物料压缩行为差异的有用工具。图 24 描述了这样一个例子，塑性变形的喷雾干燥速溶山梨醇和更易碎的维生素 C 一起压片。5kN 的低压力压成 10mm 片剂，可以看到方形的维生素 C 晶体和部分变形的山梨醇颗粒（图 24 左上图）。图 24 右上图比较了两种（5kN（左）和 30kN（右））压力压制的片剂表面。在较高的压力下，形成了统一、平整、光滑的表面，但是在这个表面内可看到一个单一的未改变的维生素 C 晶体。观察一个破碎的片剂（图 24 中图），它是用较高的压力 30kN 制备的，显示维生素 C 晶体完全固定在塑料变形的山梨醇中。即使当晶体从山梨醇基质中部分移除，在破碎的片剂中，山梨醇基质还是完整的（图 24 右中图）。这一点也可由下图说明，当维生素 C 晶体随着片剂的破碎而破坏时，它还是由塑性变形的山梨醇包裹。这些发现和 Hess[54] 的研究相同，他用了塑性变形的氯化钾（图 25 上图）。当用低的压力压片时（图 25 左上图），单一的氯化钾颗粒被其间的颗粒分隔，当用高的压力压片时，虽然原来的颗粒仍可以被检测到，但是没有可见的分隔颗粒（图 25 右上图）。

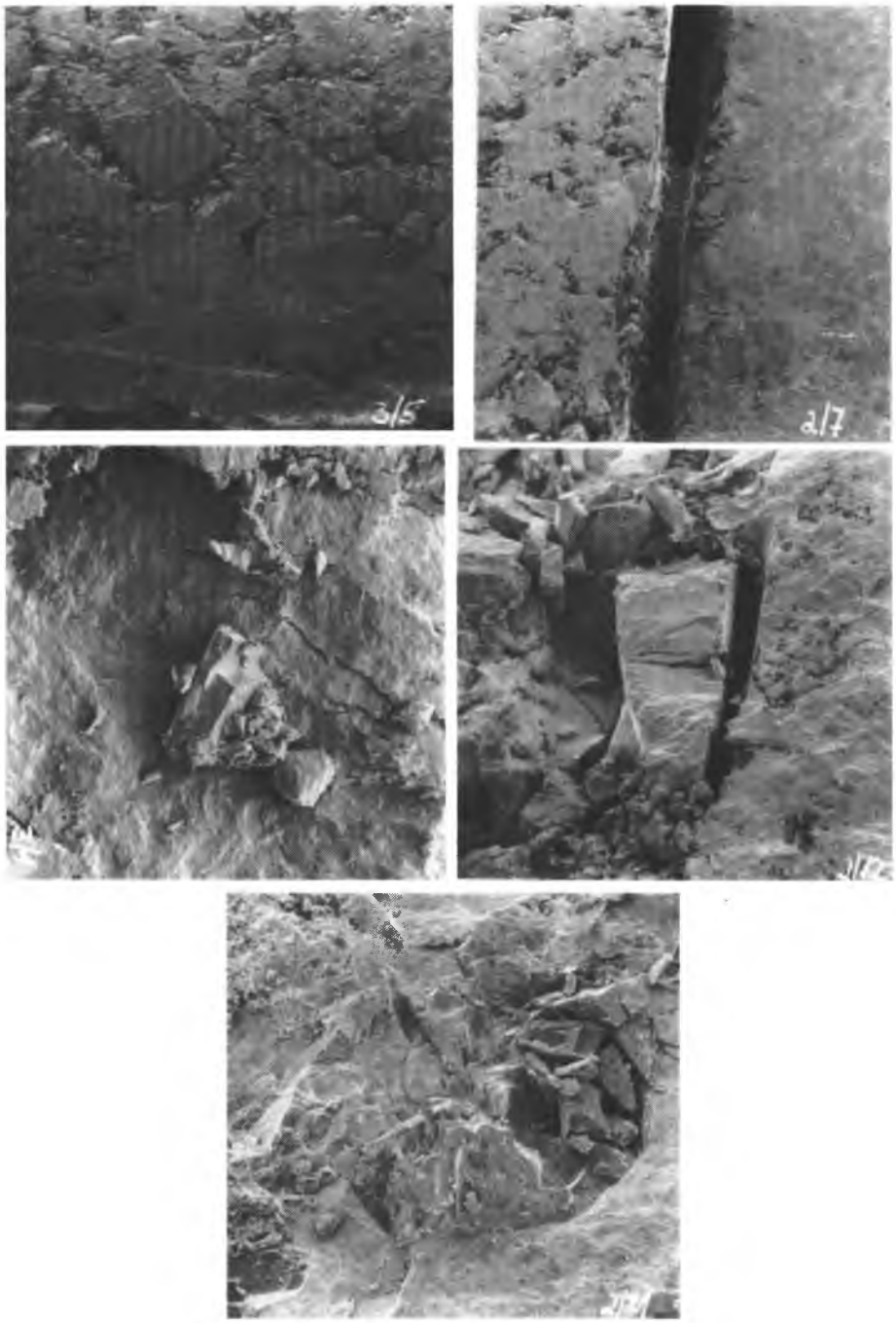


图 24 通过塑性变形物质山梨醇和脆性物质维生素 C 证明了在压片过程中物质变形行为的差别。左上图在 5kN（直径 10mm）下压片，右上图在 30kN 下压片。一部分破损的药片显示已完全嵌入可塑性变形的山梨醇中的维生素 C 结晶（左中图）和通过药片断裂而从山梨醇基质中部分除去的结晶（右中图）。山梨醇基质中有破裂的维生素 C 结晶（下图）

当把丸剂压制成片剂时，其变形基于它们的硬度[55]。当用球形结聚法制备的硬丸剂被压制时（图 25 中图），丸剂在表面（图 25 左中图）依然可见，在片剂的内部只是部分变形（图 25 右中图）[53]。这是很重要的，当丸剂有肠衣或者缓释包衣时压制的目的就是为了不破坏包囊。

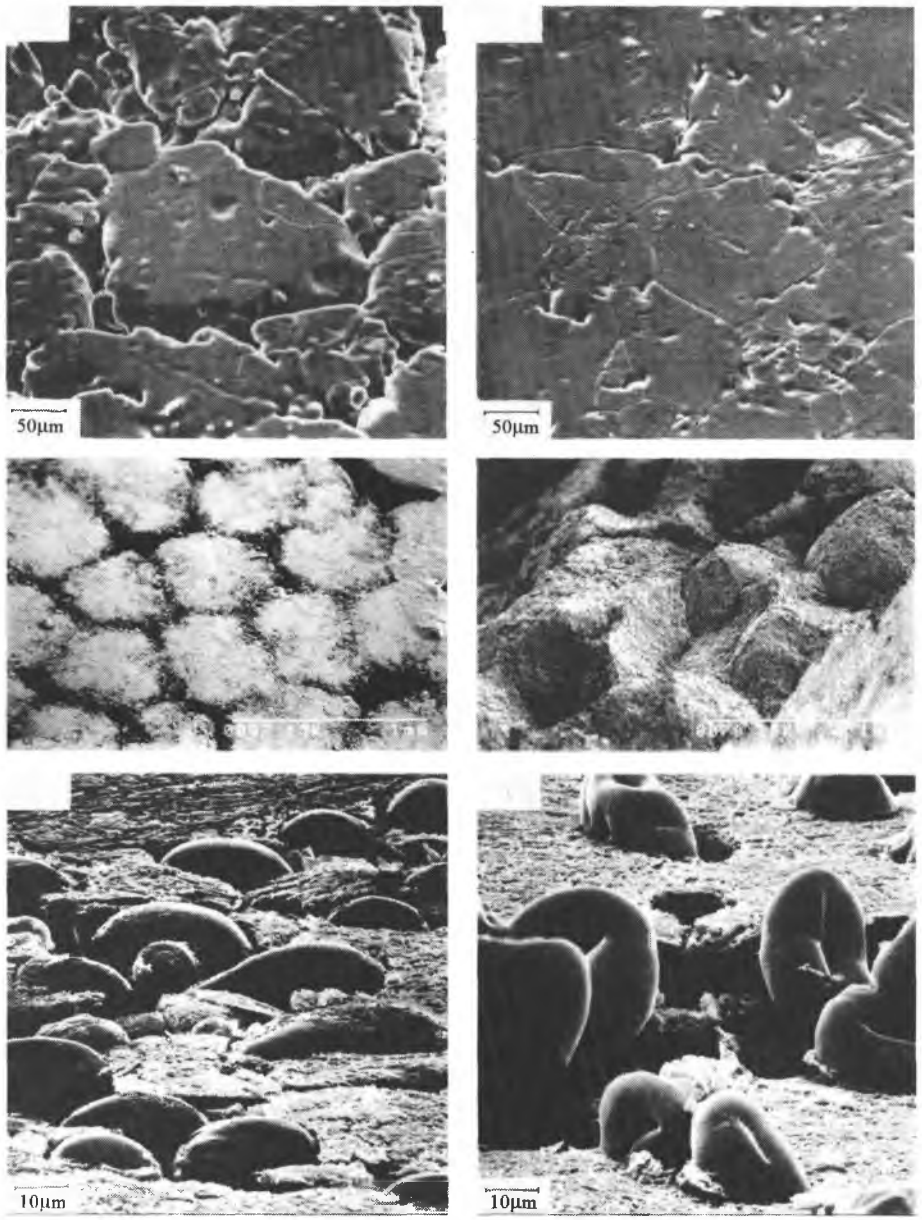


图 25 在压片过程中所观察到的物质变形的差别。在低压力（左上图）和高压力（右上图）下的氯化钾，通过球形结聚法制备的丸剂的片剂表面（左中图）和破损片的内部（右中图）。含有 10%羧甲基纤维素钠的 ASA 片的表面（左下图）和用指针润湿后的同一表面（右下图）[54]

图 25 下图显示物料质压缩后的弹性回复。左下图描述包含 10%羧甲基淀粉钠作为崩解剂的 ASA 片剂的表面情况。塑性变形的 ASA 在压缩后保持光滑，然而淀粉衍生物显示弹性回复。当用指针湿润表面后，淀粉衍生物的颗粒开始膨胀出片剂表面[54]。

6. 包衣

包衣由于以下几个原因用于固体药物剂型：掩盖味道，防湿，耐胃酸，缓释等[56]。它们可以制成溶液、乳剂、伪乳胶分散体，或包含微粉化聚合物粉末的混悬液，作为成膜剂。聚合物溶液成膜是最容易的，因为单个聚合物分子能够互相作用形成包衣层。使用乳胶或伪乳胶分散体甚至微粉化的聚合物，情况是不同的，如图 26 所示。乳胶微粒的大小是均匀的，为 100～200nm。伪乳胶的显示更宽的粒径分布，虽然平均粒径在同一范围内。而成膜剂的微粉化粒径相比乳胶的高 10～30 倍，在 1～3μm 甚至更大。对于完全成膜，增塑剂必须均匀地渗入聚合物中。当使用乳胶分散体时这很容易实现。对于伪乳胶分散体，较大的颗粒不能完全塑化，另外，对于微粉化聚合物，只有颗粒的外部可以被增塑剂渗入。不同的结果显示见图 27，上图显示

的是用微粉化聚合物 HP55（HPMCP）包衣的丸剂的粗糙的表面和横截面。横截面显示包衣层和颗粒内部几乎不能分辨。膜的厚度约 25μm。下图显示用 HP55 有机溶液包衣的丸剂有光滑的表面和更均匀的横截面。膜结构的更多细节显示见图 28。组成和制备条件的影响是明显的。上图描绘了不含色素制成的膜，中图描绘了另加的 50% 的硬酯酸镁导致结构更清晰的层，下图是高度放大的一个不完整的膜的截面。在表面附近是色素小板，小板旁的乳胶颗粒组成膜，然而在膜的内部仍然以 100～200nm 范围的乳胶颗粒形式存在。显然在该区域没有达到最低成膜温度。该图清楚地表明成膜剂不同的应用形式间的差异。

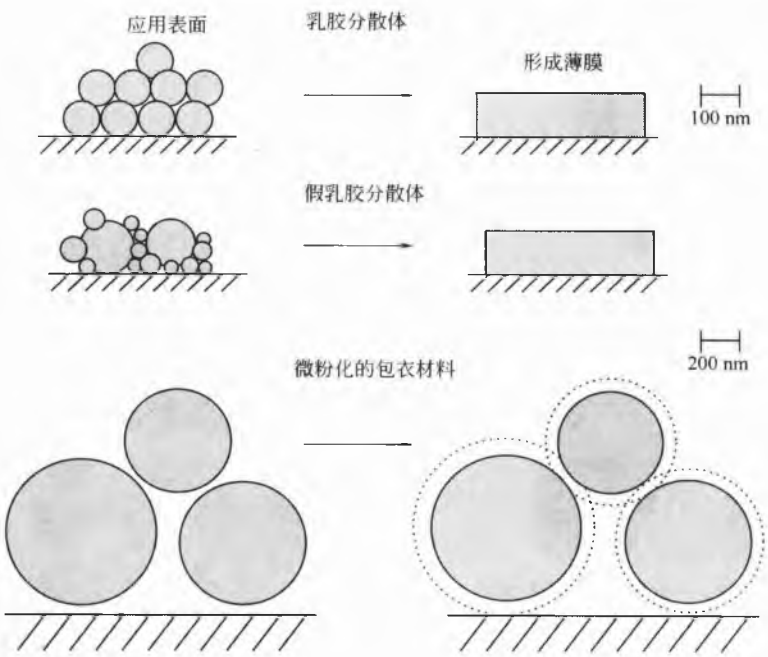


图 26　从乳胶和假乳胶分散体以及微粉化的包衣材料观察薄膜形成机制的差异

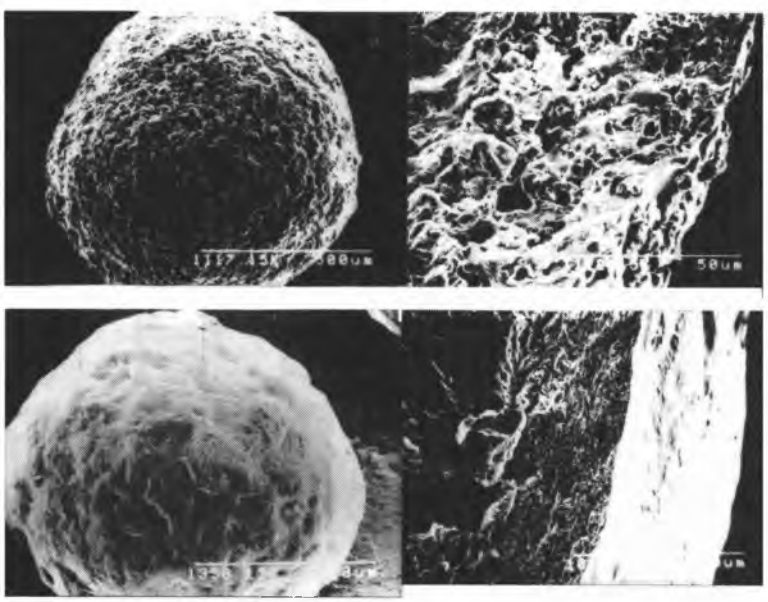


图 27　所用聚合物的类型对薄膜性质的影响。HP55（HPMCP）包衣丸剂，由微粉化的薄膜分散体制备（上图）；HP55（HPMCP）包衣丸剂，由有机溶剂制备（下图）

Z

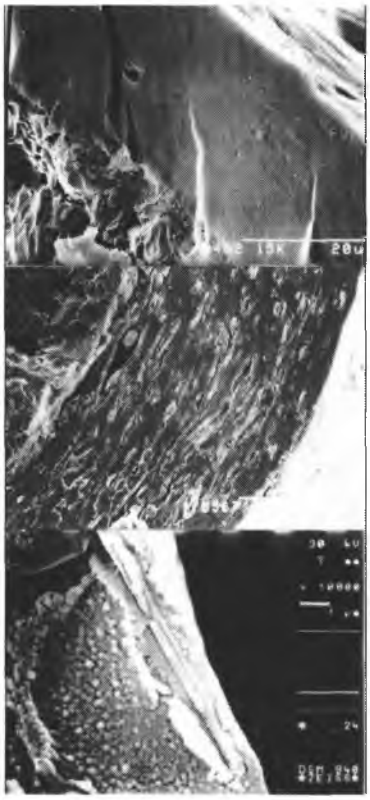


图 28 不同薄膜的横截面。不含色素的丙烯酸树脂 L30D，薄膜厚约 25μm（上图）；含 50%硬脂酸镁的丙烯酸树脂 L30D，薄膜厚约 25μm（中图）；在高放大率下形成不完全的薄膜，显示了来自丙烯酸树脂 L30D 分散体薄膜中的各自的乳胶颗粒（下图）

色素可以影响膜的机械性，以及包衣片剂和丸剂的药物溶出行为。根据 Rowe[57] 的观点，不同的色素应该根据色素的体积浓度来比较，这种比较、考虑了密度上的差异[式（3）]：

$$PVC = \frac{V_P}{V_P + V_B} \qquad (3)$$

式中，PVC 为色素体积浓度；V_P 色素体积；V_B 聚合物体积。

色素展现不同的形状和大小。图 29 清楚地显示了氧化铁红（左上图），二氧化钛（右上图），滑石粉和云母（中图），两种珠光色素（下图）。两种金属氧化物晶体的主要粒径在 1μm 以下。铁红比二氧化钛更易聚集成团。滑石粉（图 29 左中图）和云母（图 29 右中图）显示更宽的粒径分布的板状结构。两种珠光色素，都基于云母，包裹着氧化物，显示典型的板状结构和更大的粒径。对于二氧化钛[58] 和云母[59] 色素在包衣膜处方中的量会影响药物的溶出。到达临界色素体积浓度时，膜的渗透性会减小，因此缓释效应就延长了。在临界色素体积浓度以上时由色素引起的均匀膜层的缺陷会使膜的渗透性增加[60]。

对于珠光色素，分别基于它们的粒径和（或）BET 表面，该作用可以用来控制缓释制剂的药物释放。图 30 比较了水性包衣 ECD30 的茶碱丸剂在 3、6h 后体外溶出情况。基于聚合物的用量，包衣液中含有 20%的不同色素。Sicopharm（铁红）和二氧化钛，都是细晶体，释放速度最高。其他的有或多或少的板状结构，减慢药物溶出，与色素的 BET 表面直接相关[60]。膜渗透性降低的原因在于含有板状色素的特殊膜结构。图 31（左）显示了近 45°的膜结构的剖面，很明显有顶状结构。因此物质要渗透入膜必须先渗透固体板，从而延缓了扩散。因而药物溶出被延迟了。在溶出过程中因为聚合物的膨胀，膜也膨胀。这一过程的最后一张图显示在图 31（右）。此时膨胀的膜的截面在 90°进行观察。色素板仍然在它们原来的重叠区域。膨胀的程度取决于所使用的聚合物的种类。水性包衣 ECD30 与 Eudragit RL 30 D 和 RS 30 D 相比仅有轻微的效果。

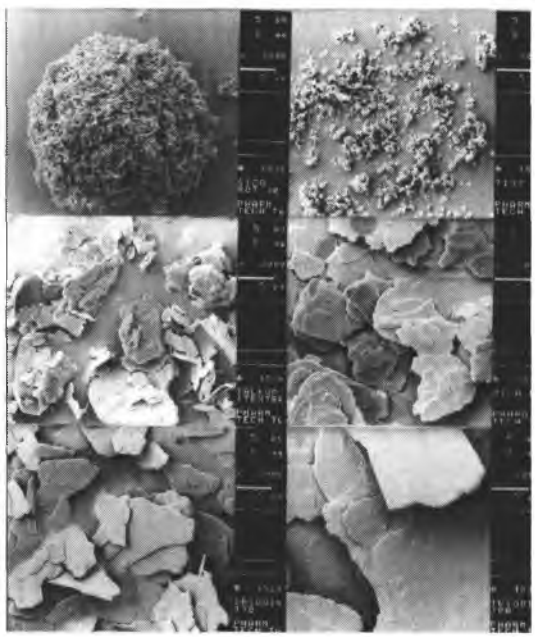


图 29 在相同放大倍率下色素尺寸大小的比较。氧化铁红（左上图）、二氧化钛（右上图）、滑石粉（左中图）、云母（右中图）及两种有珠光光泽的颜料 Iriodin 110（左下图）和 Iriodin 100（右下图）

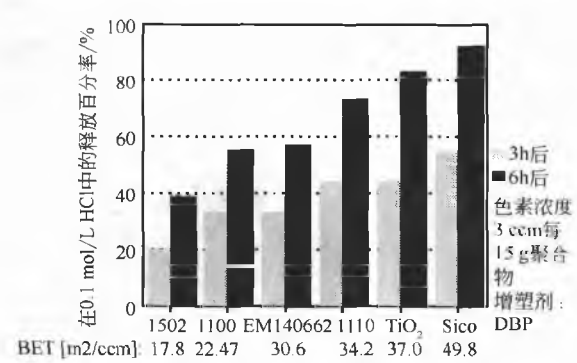


图 30 含有不同色素的乙基纤维素 ECD30，水性包衣丸剂中茶碱的释放与色素表面 BET 的关系

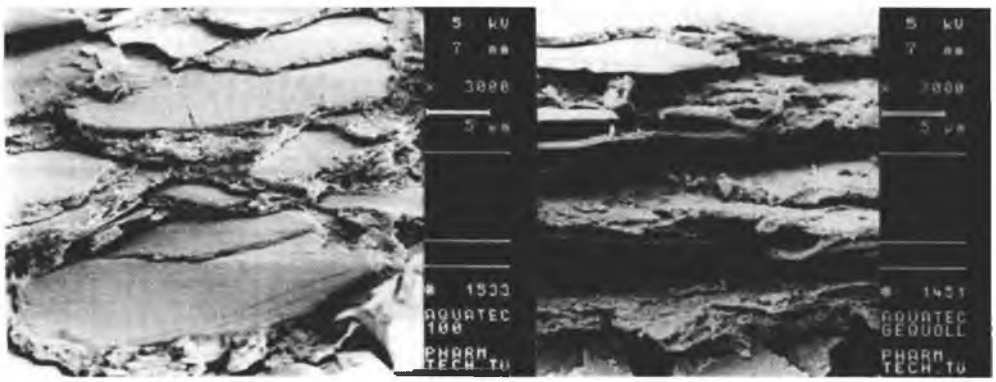


图 31 来自含有 20%（v/v）珠光光泽的颜料 Iriodin100 的薄膜横截面

7. 喷雾干燥产品

喷雾干燥用来将溶液、乳液或者混悬液变成粉末[61]，这种应用在制药技术中有很多。例如将原料喷干以增加物质的可压性，如乳糖[62]和磷酸三钙[13]，将像地高辛这样的少量成分均匀地分布在基质中，将地高辛和亲水性聚合物结合来增加溶出速率[63]。

通常人们希望通过喷雾干燥工艺从溶液或者乳液得到圆形或近球形的颗粒。当使用混悬液时，得到的颗粒可能或多或少是不规则团块，就像前述的喷雾干燥乳糖，以及一些被称为“多用途赋形剂”一样。但是即使是从溶液开始，不一定能得到圆形颗粒。如图 32 所示，反丁烯二酸和 L-亮氨酸在原始状态下是由薄片组成的晶体。喷雾干燥后反丁烯二酸形成小的星型团块（图 32 右上图），而 L-亮氨酸形成由小且薄的小板组成的中空的球形（图 32 右下图）。这些球体有优点，如和粉碎品相比可作为泡腾片的润滑剂，因为在压制的过程中球体被破坏，在压片机冲模上形成小的 L-亮氨酸片状[63]。因此在泡腾片处方中 3.75%的喷雾干燥 L-亮氨酸比 5%的粉碎品更有效[64]。喷雾干燥的浸膏常用于制备速溶的茶制剂[65]，优点是溶解更快、活性成分均匀分布、流动性好，粉末无粉尘。单个液滴的干燥过程如图 33 所示。

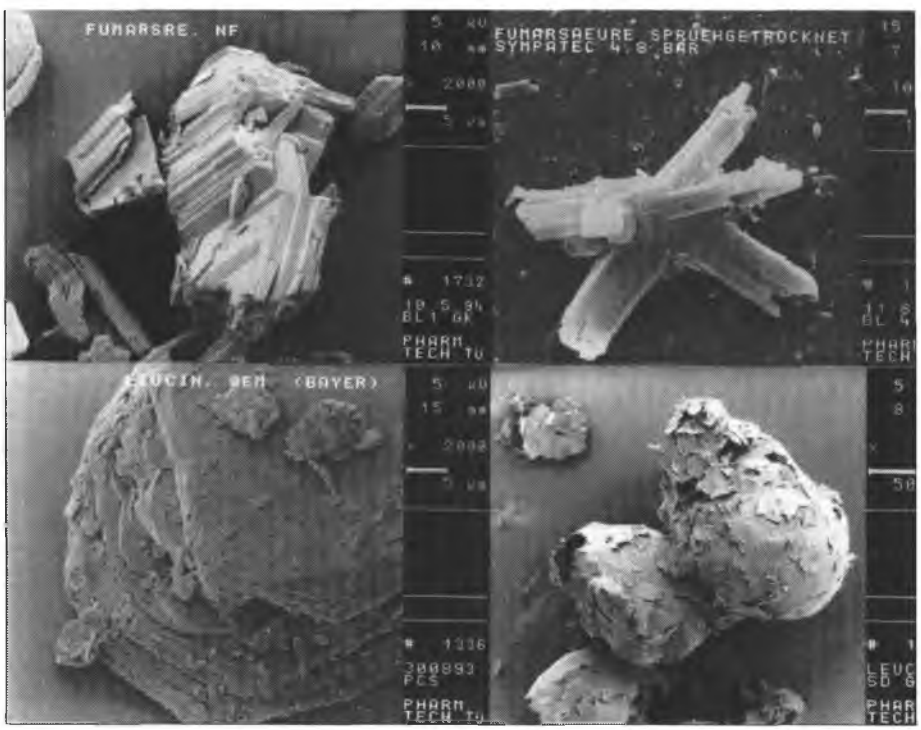


图 32 SEM 图显示初始物料和它们相应的喷雾干燥产品。磨细的（左上图）和喷雾干燥的（右上图）反丁烯二酸；磨细的（左下图）和喷雾干燥的（右下图）L-亮氨酸；喷雾干燥前两物质为层状的结晶物，但喷雾干燥后有显著的区别

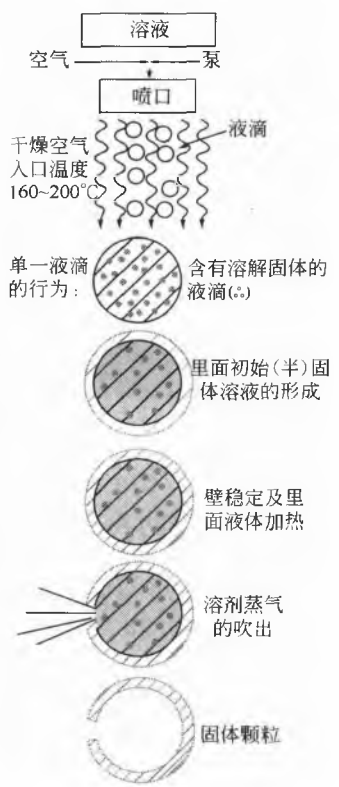


图 33 提取物的喷雾干燥过程中单一液滴的行为

第一步，在泵和压缩空气或者无空气系统的帮助下通过喷雾干燥机的喷嘴形成液滴。因为干燥空气的高温，溶液首先从液滴的外表面蒸发，并且在液滴外形成一个固体“皮肤”，阻碍进一步的蒸发。因此，液滴内的压力增加直到外壁破裂，溶剂被吹出液滴。最后，形成中空的固体颗粒，显示有小洞，即液体吹出的地方。根据处方的赋形剂，在此过程中颗粒或多或少被破坏。碎片就相互黏附，或黏在球体上。图 34（左上图）就揭示了这样一种行为。图中的另外一些颗粒是来自于无空气喷雾干燥系统，制得的颗粒的大小在 100～500μm 范围内。也有碎片黏附于颗粒上，或两、三个球体的聚集成团。其中一个微粒的放大倍数很大（图 34 右上图）显示了“流出洞”和黏附的碎片。用更高的放大倍数显示其中一个“流出洞”（图 34 左下图）揭示了在一个更大的微粒中存在着碎片和小球体。在（图 34 右下图）中，一些颗粒有不规则的表面。这些是人为的，在样品制备时形成的。它们是用金来飞溅时因过热而产生的结果。图 35（上图）显示了一个相同的例子。大多数喷雾干燥的泛酸钙颗粒因为之前形成的薄壁球在高真空 SEM 下不稳定性而塌陷。不时在 SEM 下可以发现颗粒被破坏。

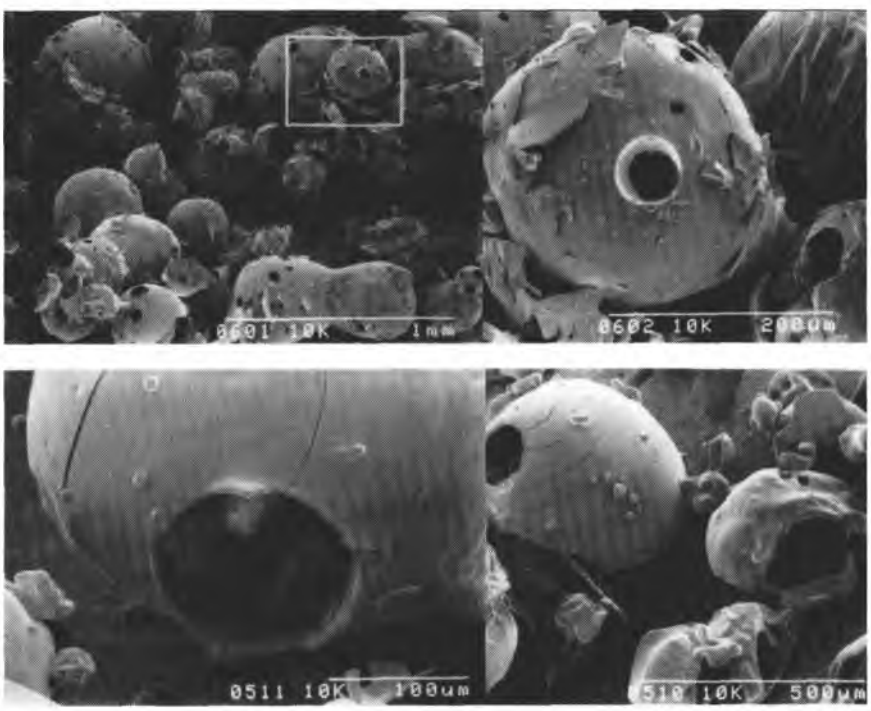


图 34 用于简单地制备可溶性茶制剂的喷雾干燥的植物提取物。采用无空气喷雾干燥系统制得的产品粒径分布粗（左上图）及放大图（右上图）；一个颗粒的详细图显示内部有碎片（左下图），及不正确的样品制备的图（右下图）

图 35（下图）说明了之前提及的微粒在使用空气驱动的喷嘴代替无空气喷嘴时的差异。在图中款冬花提取物的颗粒大小是 1～20μm，在飞溅涂层过程中其中一些破坏了（左下图）。

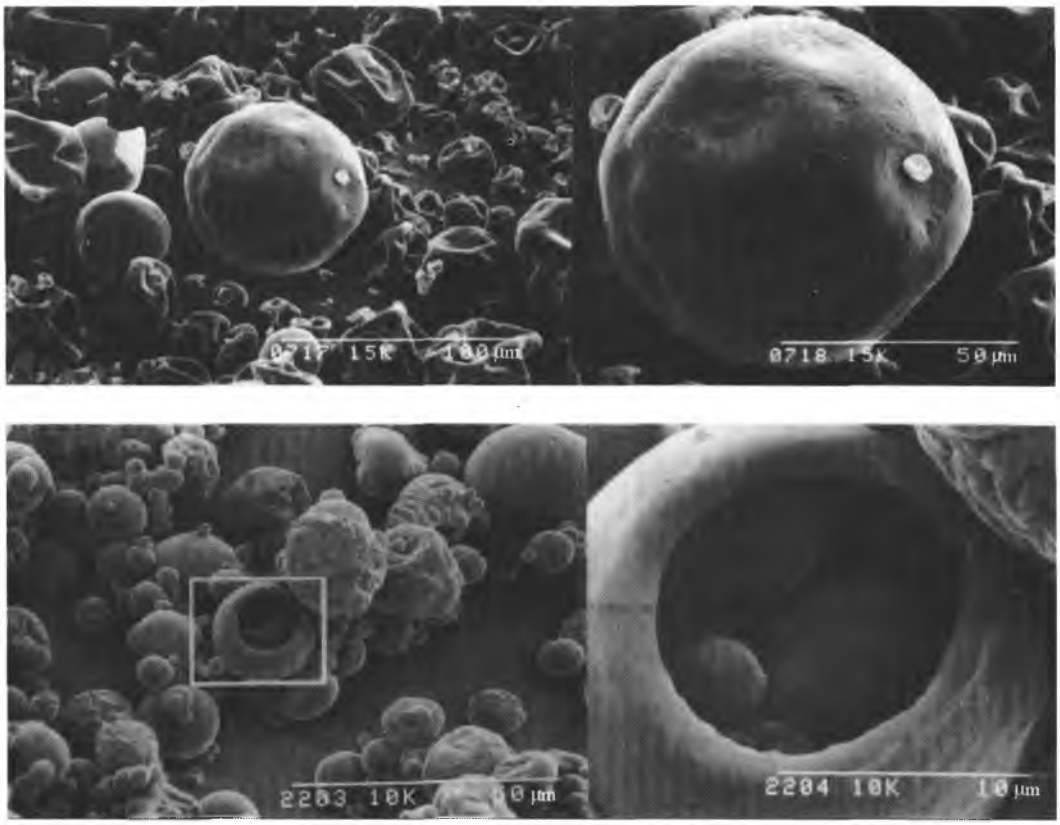


图 35　喷雾干燥提取物和泛酸溶液。喷雾干燥泛酸钙：概图（左上图）和详图（右上图），主要显示了在 SEM 高真空或飞溅法涂层过程中的热引起制备样品的过程中颗粒的破损。通过使用雾化气而形成小液滴和小粒径的系统而得到的喷雾干燥的款冬花（左下图）和放大图（右下图）

在更高的放大倍数下（右下图）一个直径约 20μm 的单一微粒中包含着更小的颗粒。壁厚约 1μm 或更低。有些情况下将内相含油的乳剂进行喷雾干燥。图 36 描述了喷雾干燥的颗粒在表面和内部含有小油滴。在真空下样品飞溅过程中油滴从喷雾干燥的颗粒表面挥发，而不挥发的油滴留在表面，由金包裹。图 37 用二次电子显微镜显示了喷雾干燥乳剂不同的情况。上图显示的是一个含有黏附着更小颗粒的喷雾干燥颗粒的甘菊环。此时表面没有油滴可见，是因为甘菊环属于精油。中图描绘了含有 50%维生素 E 醋酸酯的喷雾干燥颗粒的表面，它的表面是粗糙的。下图描绘了在更高倍数放大下清晰的显示了喷雾干燥颗粒表面的小油滴。

8. 冻干产品

冻干是由 Altman[66] 在 1890 年第一次实施的，但该工艺在工业化开发后才出名。这种工艺被用在食品工业中，生产速溶咖啡、茶和其他产品。在制药技术中，冻干产品长期来限于用在少数包含冻干活性成分并须在使用前复溶的少数注射剂。随着蛋白质和多肽的发展，冻干产品变得更重要了。下文中在“注射用微粒”一节中加以讨论。

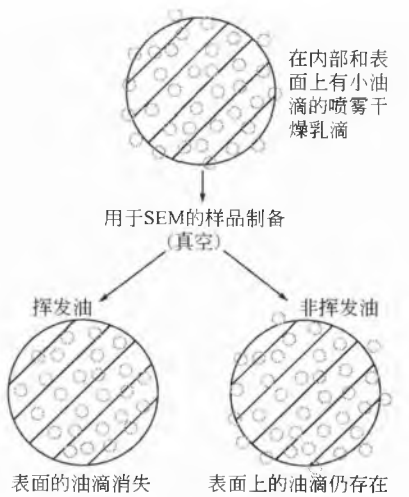


图 36　在样品制备中包含挥发油和非挥发油的喷雾干燥乳剂间的差别。制备中挥发油的油滴在真空下消失，而非挥发油的油滴仍存在

Z

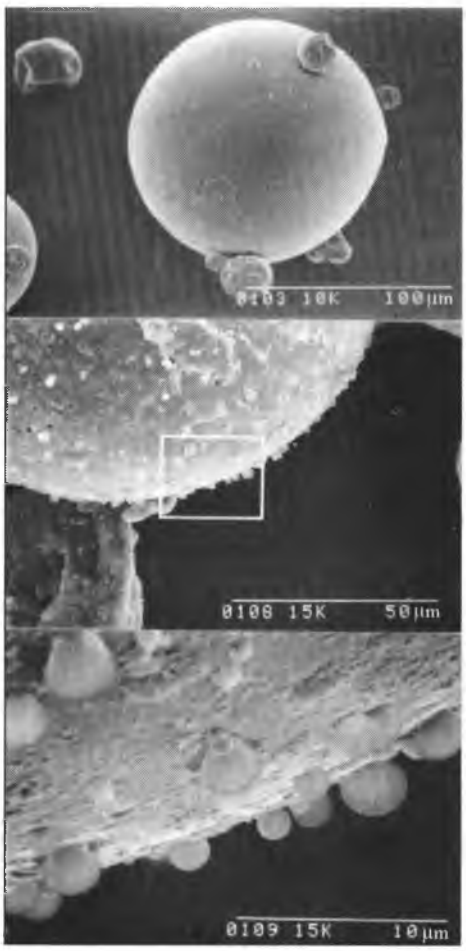


图 37 喷雾干燥乳剂。包含挥发油（甘菊环烃）乳剂的颗粒（上图），包含非挥发油（维生素 E 醋酸酯）乳剂的颗粒（中图和下图）

即溶冻干片[67]在这几年为人所知，主要为那些吞咽片剂有困难的人而开发。制备方案见图 38。包含活性成分和像甘露醇这样的赋形剂以及必要的聚合物、甜味剂、颜料、矫味剂的溶液通过泵中注入预成型的 PVC 泡或 PVC 和 PVDC 的组合物中。含有溶液的泡罩被冻干，工艺最后用铝箔来覆盖泡罩。图 39 上图显示小片的尺寸而它们通过冻干过程变成了泡的形状。表面有孔道，水通过其蒸干。这些孔道在片剂中形成了渗透系统（图 39 中图）。它们的微观结构显示在图 39 下图，小片的松散结构有着很高内面积。通过孔道，水快速穿透小片导致快速的溶解。

9. 注射用微粒

在最近十多年，多肽和蛋白质作为药物越来越重要了。它们中的大多数都是在酸性环境和酶的作用下不稳定，因此，不能口服[68]。随着 PLGA 作为注射用的缓释可生物降解聚合物被发明和注册，注射微粒的制备方法变得很有趣[69]。喷雾干燥和冻干以及被称为“水中干燥”的制备方法正在使用着[70]。后者显示在图 40 中。醋酸亮丙瑞林溶于

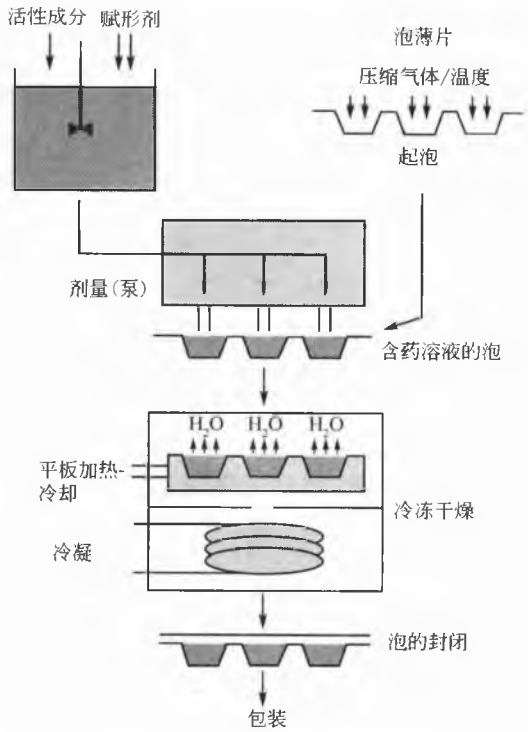


图 38 含冷冻干燥片的药物的制备工艺



图 39 速溶的冷冻干燥药片/片剂的横截面图和俯视图。在表面（上图）和横截面部分间的界线（中图），药片的内部（下图）

水中，与 PLGA 的二氯甲烷溶液被混合成 w/o 乳剂，二氯甲烷是乳剂的外相，再加上 PVA 水溶液，形成了一种水/油/水的复乳，PVA 为外相。通过空气处理系统，大部分的二氯甲烷被蒸发，导致 PLGA 沉淀。制得的颗粒被离心、冻干在真空干燥来除去残留的二氯甲烷[71]。图 41 显示圆形颗粒作为注射前再分散的材料（左图），高度放大的单个颗粒（右图）。单个颗粒显示由于二氯甲烷的蒸发形成小孔。为了作比较，冻干产物显示在图 41 下图。

10. 植入物

植入物可以是生物降解的也可以是非生物降解的。在早些时候片剂通过小手术来植入，然后在一定的时间后取出。现代植入物由生物降解型的有机或者无机材料组成。自从 Zoladex® 上市以来最常用的有机材料是 D，L-聚丙乙交酯[71]。植入物是圆柱形的，直径适合针管和注射针。制作这种植入物的方案见图 42。

活性成分和多聚体混合在一起，挤出成圆柱棒，切割成大约 1cm 长。这些小段被导入针管并通过针尖植入患者体内。图 43 显示两倍放大下的圆柱形植入物的一端。更高倍数的放大显示在棒的末端有些小的不规则物，这和应用过程中有时产生的疼痛有关。

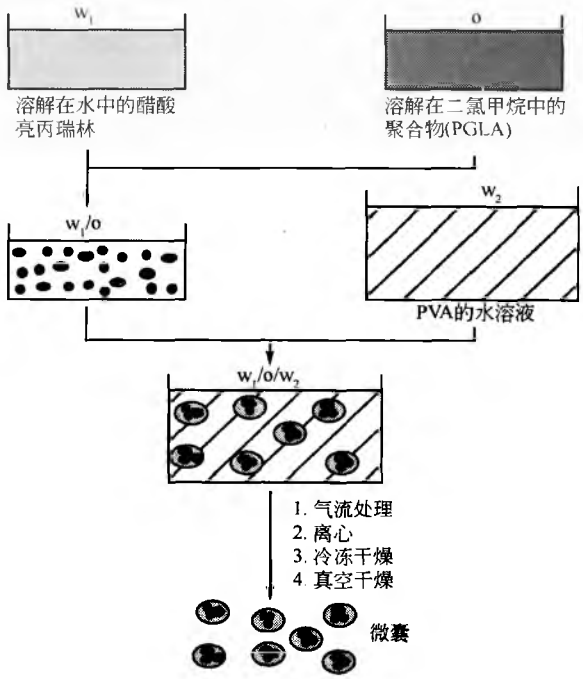


图 40 依据“水中干燥”法制备含醋酸亮丙瑞林的微囊

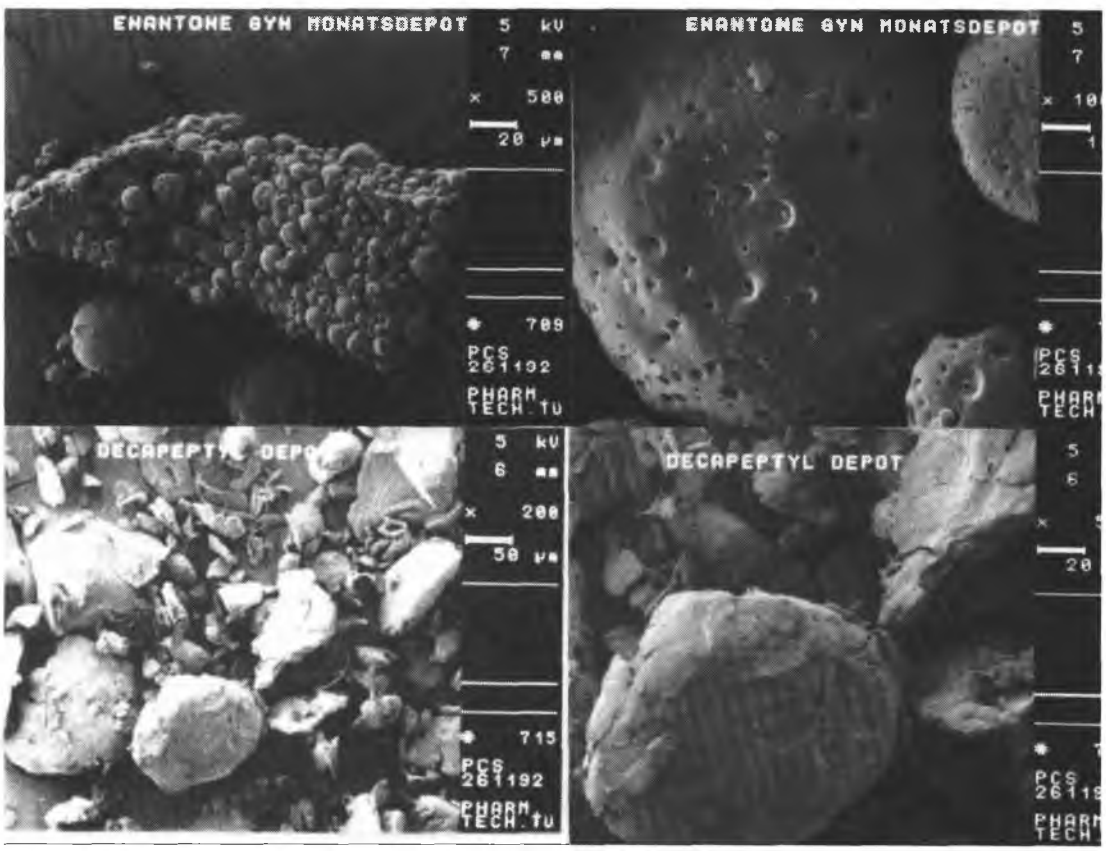


图 41 通过“水中干燥”法制备用于注射的微粒（上图）和通过冷冻干燥制备两种 LHRH 类似物（下图）

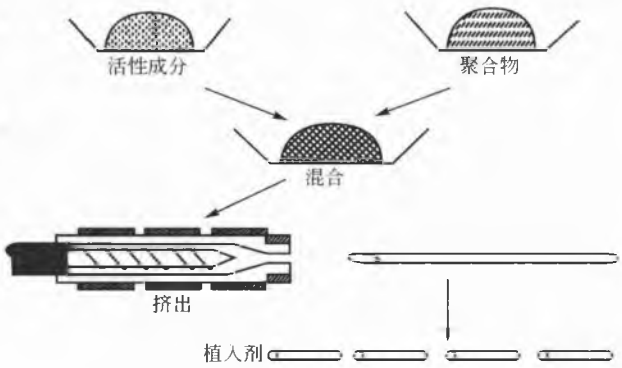


图 42 通过挤出 D, L-聚乙交酯丙交酯和活性成分的混合物来制备无菌注射用植入剂

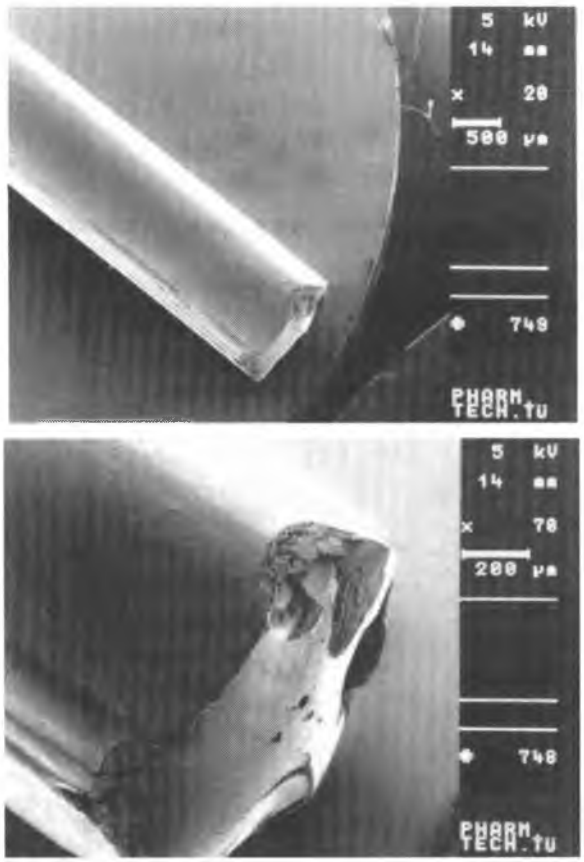


图 43 Zoladex® 圆柱形植入剂的 SEM 图。下表面的条纹是由挤出喷口的小的不规则造成的（上图）。在较高放大率下 Zoladex® 植入剂的末端。横截面显示的是由于切断单个圆柱体而引起的不规则（下图）

植入物被用于骨感染的基于 β-三磷酸钙小陶丸[72]的局部抗生素治疗。这种丸剂通过制粒然后在 975～1300℃的高温下处理制得。它们载有良他霉素一类的抗生素。药物的释放受丸剂小孔体积的影响而产生缓释效应。图 44 是一些材料 SEM 下的图像，以及热处理和加压对小绿丸的材料结构的影响。表 3 为生产数据。

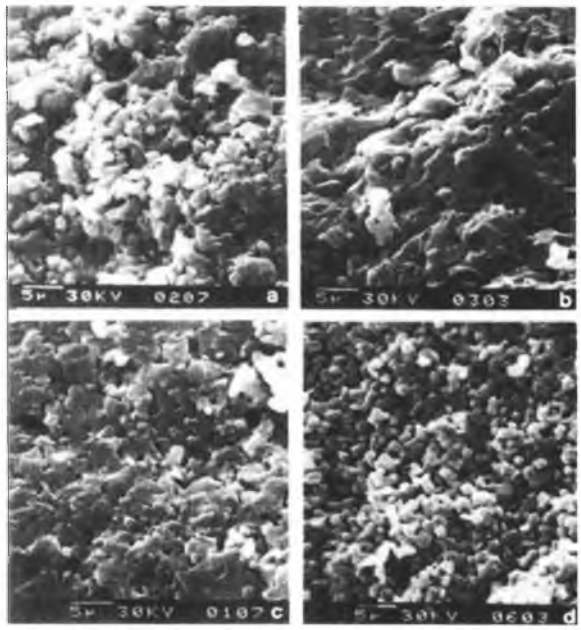


图 44 β-磷酸三钙（a～c）和羟基磷灰石（d）多孔陶瓷丸剂的结构横截面的 SEM 图

表 3 β-磷酸三钙和羟基磷灰石的多孔陶瓷丸剂各自的生产数据

类型（见图 44）	压力 /MPa	点火温度 /℃	尺寸[1] (d/h;mm)	密度[2] /%
a[3]	48	1075	4.4/4.0	64.9
b[3]	48	1125	4.1/3.7	78.4
c[3]	168	1075	4.4/4.0	79.8
d[4]	111	1150	4.4/4.0	63

1) d 直径；h 高度。
2) 基于原料真实密度的百分密度。
3) β-磷酸三钙。
4) 羟基磷灰石。

增加加热温度从 1075～1125℃，由于更少的小孔导致更小的药丸和更高的密度。通过更高的压力在较低的温度下同样可以得到相同的压缩物。羟磷灰石和 β-磷酸三钙相比在高热时密度更低。通过这种办法药物的释放可长达 14 天。

总结

在制药技术中 SEM 的应用已经变得相当广泛。除了其他技术比如粒径分析、表面测定、X 射线衍射、差示扫描量热法，它对于原料的表征来说是很有用的工具。像混合粉末、颗粒以及其他原料等中间体也可以通过 SEM 检查。对交互作用的混合粉末，这是唯一能看到交互作用的方法。它还可以检测丸剂大小及形状、表面特征、包衣等。片剂可以在 SEM 下显示内部结构。通常通过显微镜的图像可以解决超过 50% 的问题。

参考文献

1. Watt, I. M. Microscopy with Light and Electrons. The Principle and Practice of Electron Microscopy, 2nd Ed.; Cambridge University Press: New York, Melbourne, 1997; 8—10.
2. de Broglie, L. A. Tentative Theory of Light Quanta. Phil. Mag. 1924, 47, 446.
3. Watt, I. M. Microscopy with Light and Electrons. The Principle and Practice of Electron Microscopy, 2nd Ed.; Cambridge University Press: New York, Melbourne, 1997; 14.
4. DSM 940. A-Design of Instrument. Operation Manual; Zeiss: Oberkochen, 1990; 4—5.
5. Sommer, K. Sampling Procedures. Sampling of Powders and Bulk Material; Springer-Verlag: Berlin, New York, Tokyo, 1986; 80—124.
6. Sympatec Rhodos 12SR Rhodos Operationg Instructions. Operation Manual; Sympatec GmbH: Clausthal-Zellerfeld, 1985; 3.1—3.52.
7. Watt, I. M. Specimen Preparation for Electron Microscopy. The Principle and Practice of Electron Microscopy, 2nd Ed.; Cambridge University Press: New York, Melbourne, 1997; 136—187.
8. Shangraw, R. F.; Wallace, J. W.; Bowers, F. M. Morphology and Functionality in Tablet Excipients for Direct Compression. Part I. Pharm. Technol. 1981, 5, 69—78.
9. Doelker, E.; Massuelle, D.; Veuillez, F.; Humbert-Droz, P. Morphological, Packing, Flow, and Tableting Properties of New Avicel Types. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21, 643—661.
10. Larhrib, H.; Wells, M. H.; Rubinstein, M. H.; Ricart, G. Characterization of PEGs using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry and Other Related Techniques. Int. J. Pharm. 1997, 14, 187—198.
11. Khan, K. A.; Rhodes, C. T. The Production of Tablets by Direct Compression. Can. J. Pharm. Sci. 1973, 8, 1—5.
12. Shangraw, R. F. The Design and Evaluation of Coprocessed Tablet Excipients and Direct Compression Active Ingredients. FMC 1981, 1, 1—20.
13. Schmidt, P. C.; Herzog, R. Calcium Phosphates in Pharmaceutical Tableting. Part I: General Properties, Pharm. World Sci. 1993, 15, 105—115.
14. Schmidt, P. C.; Herzog, R. Calcium Phosphates in Pharmaceutical Tableting. Part II: Comparison of Tableting Properties. Pharm. World Sci. 1993, 15, 116—122.
15. Carstensen, J. T.; Ertell, L. Physical and Chemical Properties of Calcium Phosphates for Solid-State Pharmaceutical Formulations. Congr. Int. Technol. Pharm., 5th, Ass. Pharm. Gal. Ind. 1989.
16. Hou, X. P.; Carstensen, J. T. Compression Characteristics of Basic Tricalcium Phosphate ($Ca_3(PO_4)_2$, $Ca(OH)_2$). Int. J. Pharm. 1985, 25, 207—215.
17. Lerk, C. F. Physikalisch-Pharmazeutische Eigenschaften Von Lactose. Pharm. Unserer Zeit 1987, 16, 39—46.
18. Schmidt, P. C.; Vortisch, W. Einfluß Der Herstellungsart von Füll-und Bindemitteln auf Ihre Tablettierfähigkeit: Vergleich von Acht Marktüblichen Sorbit-Typen. Pharm. Ind. 1987, 49, 495—503.
19. Schmidt, P. C. Tableting Characteristics of Sorbitol. Pharm. Technol. 1983, 7 (11), 65—74.
20. DuRoss, J. W. Modification of the Crystalline Structure of Sorbitol and Its Effects on Tableting Characteristics. Pharm. Technol. 1984, 8, 42—53.
21. Schmidt, P. C.; Rubensdörfer, C. Evaluation of Ludipress as a "Multi-Purpose Excipient" for Direct Compression. Part I: Powder Characteristics and Tabletting, Drug Dev. Ind. Pharm. 1994, 20, 2899—2925.
22. Pesonen, T.; Paronen, P.; Puurunen, T. Evaluation of a Novel Cellulose Powder as a Filler-Binder for Direct Compression of Tablets. Pharm. Weekbl. Sci. Ed. 1989, 11, 13—19.
23. Schmidt, P. C.; Rubensdörfer, C. Evaluation of Ludipress as a "Multi-Purpose Excipient" for Direct Compression. Part II: Interactive Blending and Tabletting with Micronized Glibenclamide Drug, Dev. Ind. Pharm. 1994, 20, 2927—2952.
24. Gebre-Mariam, T.; Schmidt, P. C. Isolation and Physico-Chemical Properties of Enset Starch. Starch/Stärke 1996, 48, 208—214.
25. Bolhuis, G. K.; van Kamp, H. V.; Lerk, C. F. On the Similarity of Sodium Starch Glycolate from Different Sources. Drug Dev. Ind. Pharm. 1986, 12, 621—630.
26. Ferrero, C.; Munoz, N.; Velasco, M. V.; Munoz-Ruiz, A.; Jiménez-Castellanos, R. Disintegrating Efficiency of Croscarmellose Sodium in a Direct Compression Formulation. Int. J. Pharm. 1997, 147, 11—21.
27. Bertoni, M.; Ferrari, F.; Bonferoni, M. C.; Rossi, S.; Caramella, C. Functionality Tests for Tablet Disintegrants: The Case of Sodium Carboxymethylcelluloses. Pharm. Technol. Eur. 1995, 7, 17—24.
28. Ertel, K. D.; Carstensen, J. T. Chemical, Physical, and Lubricant Properties of Magnesium Stearate. J. Pharm. Sci. 1988, 77, 625—629.

Z

Z

29. Steffens K.-J. Koglin J. The Magnesium Stearate Problem III, International Conference on Pharmaceutical Ingredients and Intermediates 1992; 118—125.
30. Delacourte, A.; Guyot, J. C.; Colombo, P.; Catellani, P. L. Effectiveness of Lubricants and Lubrication Mechanism in Tablet Technology. Drug Dev. Ind. Pharm. 1995, 21, 2187—2199.
31. Frömming, K.-H.; Gröbler, S. Einfluß Von Füllmitteln Und Von Magnesiumstearat Auf Die Wirkstofffreisetzung Aus Hartgelatinekapseln. Pharm. Ztg. 1983, 128, 786—793.
32. Roblot, L.; Puisieux, F.; Duchêne, D. A Study on Lubrication by Magnesium Stearate. The Influence of the Proportion of Lubricant and the Mixing Process on the Tablet Characteristics. Labo. Pharma. Probl. Tech. 1983, 31, 843—847.
33. Jarosz, P. J.; Parrott, E. L. Effect of Lubricants on Tensile Strengths of Tablets. Drug Dev. Ind. Pharm. 1984, 10, 259—273.
34. Williams, R. O., III; McGinity, J. W. A Study of the Influence of Magnesium Stearate or Talc on the Compaction Properties of Direct Compression Excipients using Tableting Indices. Pharm. Tech. Tabl. Tech. 1987, 1, 157—165.
35. Stange, K. Beurteilung Von Mischgeräten Mit Hilfe Statistischer Verfahren. Chem. Ing. Tech. 1954, 26, 150—155.
36. Stange, K. Die Mischgüte Einer Zufallsmischung Als Grundlage Zur Beurteilung Von Mischversuchen. Chem. Ing. Tech. 1954, 26, 331—337.
37. Egermann, H.; Frank, P. Novel Approach to Estimate Quality of Binary Random Powder Mixtures: Samples of Constant Volume. I: Derivation of Equation. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 551—555.
38. Egermann, H.; Frank, P. Novel Approach to Estimate Quality of Binary Random Powder Mixtures: Samples of Constant Volume. II: Applications of Equation to Optimize Tableting Conditions. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 667—669.
39. Egermann, H.; Krumphuber, A.; Frank, P. Novel Approach to Estimate Quality of Binary Random Powder Mixtures: Samples of Constant Volume. III: Range of Validity of Equation. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 773—776.
40. Hersey, J. A. Ordered Mixing: A New Concept in Powder Mixing Practice. Powder Technol. 1975, 11, 41—44.
41. Egermann, H.; Orr, N. A. Ordered Mixtures—Interactive Mixtures. Powder Technol. 1983, 36, 117—118.
42. Schmidt, P. C.; Ben, E. S. Vereinfachung Der Kapselrezeptur Durch Bildung Inaktiver Mischungen. Pharm. Ztg. 1987, 132, 2550—2557.
43. Schmidt, P. C.; Walter, R. Investigation of the Cohesion Behavior of Powders and Their Adhesion to a Carrier by an Electronic Tensiometer. Pharmazie 1994, 49 (2, 3), 183—187.
44. Sievert, M.; Blume, H.; Stenzhorn, G.; Lenhard, G.; Kieferndorf, U. Zur Qualitätsbeurteilung Von Phenoxymethylpenicillinhaltigen Fertigarzneimitteln 2. Mitteilung: Vergleich Der Bioverfogbarkeiten Eines Trockensaftes Und Einer Üligen Suspension. Pharm. Ztg. Wiss. 1990, 135, 103—107.
45. Ryder, J. The Formulation of Dry Syrup Preparations. Int. J. Pharm. Technol. Prod. Manuf. 1979, 1, 14—25.
46. Rothgang, G. APV-Info. 1974, 20, 39.
47. Vervaet, C.; Baert, L.; Remon, J. P. Extrusion-Spheronisation—A Literature Review. Int. J. Pharm. 1995, 116, 131—146.
48. Schmidt, W. G.; Mehnert, W.; Frömming, K.-H. Controlled Release from Spherical Matrices Prepared in a Laboratory Scale Rotor-Granulator—Release Mechanism Interpretation Using Individual Pellet Data. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1996, 42, 348—350.
49. Eriksson, M.; Alderborn, G.; Nyström, C.; Podczeck, F.; Newton, J. M. Comparison between and Evaluation of Some Methods for the Assessment of the Sphericity of Pellets. Int. J. Pharm. 1997, 148, 149—154.
50. Lindner, H.; Kleinebudde, P. Anwendung Der Automatischen Bildanalyse Zur Charakterisierung Von Pellets. Pharm. Ind. 1993, 55, 694—701.
51. Kawashima, Y. An Experimental Study of the Kinetics of Spherical Agglomeration in a Stirred Vessel. Powder Technol. 1974, 10, 85—92.
52. Kawashima, Y. Spherical Crystallization as a Novel Particle Design Technique for the Development of Pharmaceutical Preparations. Kona. 1987, 5, 75.
53. Wolf, J. Untersuchung Der Hergestellten Agglomerate. Herstellung, Charakterisierung und Tablettiereigenschaften Von Sphärischen Arzneistoffagglomeraten; Thesis University of Tübingen; Tübingen, 1990; 59—61.
54. Hess, H. Tablets Under the Microscope. Pharm. Technol. Int. 1978, 1, 18—43.
55. Beckert, T. E.; Lehmann, K.; Schmidt, P. C. Compression of Enteric-Coated Pellets to Disintegrating Tablets. Int. J. Pharm. 1996, 143, 13—23.
56. McGinnity, J. W. Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms; Marcel Dekker, Inc.; New

York, 1997.

57. Rowe, R. C. The Effect of Pigment Type and Concentration on the Incidence of Edge Splitting on Film-Coated Tablets. Pharm. Acta. Helv. 1982, 57, 221－225.
58. Thomas, N. L. The Barrier Properties of Paint Coatings. Prog. Org. Coat. 1991, 19, 102－121.
59. Asbeck, W. K.; Van Loo, M. Critical Pigment Volume Relationships. Ind. Eng. Chem. 1949, 41, 1470－1475.
60. Maul, K. A.; Schmidt, P. C. Influence of Different-Shaped Pigments and Plasticizers on Theophylline Release from Eudragit RS30D and Aquacoat ECD30 Coated Pellets. S. T. P. Pharm. Sci. 1997, 7, 498－506.
61. Herbener, R. Staubarme Pulver Durch Sprühtrocknen—Erfahrungen Mit Neueren Techniken. Chem. Ing. Tech. 1987, 59, 112－117.
62. Vromans, H.; Bolhuis, G. K.; Lerk, C. F.; van de Biggelaar, H.; Bosch, H. Studies on Tableting Properties of Lactose. VII. The Effect of Variations in Primary Particle Size and Percentage of Amorphous Lactose in Spray-Dried Lactose Products. Int. J. Pharm. 1987, 35, 29－37.
63. Nürnberg, E.; Dölle, B. Darstellung Von Digoxin-Sprüheinbettungen Aus wäβrigen Systemen: Eigenschaften Dieser Produkte. Pharm. Ind. 1980, 42, 1019－1026.
64. Röscheisen, G.; Schmidt, P. C. Preparation and Optimization of L-Leucine as Lubricant for Effervescent Tablet Formulations. Acta Pharm. Helv. 1995, 70, 133－139.
65. Rinkel, R. Sprühtrocknung Pharmazeutischer Produkte. APV-Info. 1970, 15, 170－180.
66. Oetjen, G.-W. Gefriertrocknen; VCH-Verlagsgesellschaft mbH: Weinheim, 1997; 3.
67. Corveleyn, S.; Remon, J. P. Formulation and Production of Rapidly Disintegrating Tablets by Lyophilisation using Hydrochlorothiazide as a Model Drug. Int. J. Pharm. 1997, 152, 215－225.
68. Chen, T. Formulation Concerns of Protein Drugs. Drug Dev. Ind. Pharm. 1992, 18, 1311－1354.
69. Brannon-Peppas, L. Recent Advances on the Use of Biodegradable Microparticles and Nanoparticles in Controlled Drug Delivery. Int. J. Pharm. 1995, 116, 1－9.
70. Lill, N. Injizierbare Arzneiformen Auf Basis Biodegradabler Polymere. Pharm. Ztg. Prisma 1995, 2, 269－278.
71. Schmidt, P. C.; Maul, K. A. Moderne Arzneiformen für Urogenitalerkrankungen. Dtsch. Pharm. Ztg. 1993, 138, 837－842.
72. Thoma, K.; Alex, R.; Fensch-Kleemann, E. Biodegradable Controlled Release Implants Based on β-Tricalcium Phosphate Ceramic. I. Preparation and Characterization of Porous β-Tricalcium Phosphate Ceramic Pellets. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1992, 38, 101－106.

进一步阅读

Alexander, H. Physikalische Grundlagen der Elektronenmikroskopie; Teubner Studienbücher: Stuttgart, 1997.

Flegler, S. L.; Heckman, J. W.; Klomparens, K. L. Elektronenmikroskopie: Grundlagen, methoden, Anwendungen; Spektrum: Heidelberg, 1995.

Watt, I. M. The Principles and Practice of Electron Microscopy, 2nd Ed.; Cambridge University Press: Cambridge, 1997.

（陈 燕 陈 阳 译）

Z

制药技术中的核磁共振波谱学

Kevin L. Facchine
Thomas M. O'Connell
GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.

引言

核磁共振（NMR）波谱学在药物开发的各个阶段都起了非常关键的作用。在先导物开发的早期阶段，NMR 作为组合库分析以及筛选大量与受体结合的化合物的高通量工具。在先导物合成和开发中，NMR 用于结构分析的各个方面，包括低含量的合成杂质、降解产物以及代谢物的分析。灵敏度和实验设计的发展使得它能用于浓度低于纳克级的更复杂的分子。NMR 和 HPLC 联用促进了复杂混合物中痕量化合物的鉴定。进一步的 NMR 和 MS 系统的联合提供了一种分析预想不到的结构信息。在药物开发的后期，固体 NMR 已用于原料药特征的分析，如药物和药剂中多晶型形式。本章的目的是向读者介绍 NMR 的一般原理以及它应用于药物开发的各阶段。参考文献不很详尽，但是选择了一些能阐明主要原理和发现的文献，能引导感兴趣的读者进一步研究。

NMR 的原理

1. NMR 现象

NMR 现象出现在某些具有磁矩 μ 的核子中。当核子置于磁场中时，磁矩处于不连续的取向。取向的数量由核自旋 I 决定，它是某些核的基本特征，它们的值有 0、1/2、3/2 等。核可能的取向用 $2I+1$ 表示。NMR 中最一般可观察到的核子是 ^{1}H 和 ^{13}C，它们的自旋等于 1/2，因此仅有两个不同的取向。这两种状态认为是核偶极处于与外磁场同方向（+1/2，较低能量状态）或者是与该磁场相反（−1/2，较高能量状态）。像 ^{12}C 和 ^{16}O 这些核子的自旋等于 0，因此与磁场无关，不能用 NMR 观察。

磁矩和核自旋之间的关系用式（1）表示。比例常数 γ 被认为是旋磁比。旋磁比直接和特定核的检测灵敏度有关。核的 γ 值大，它具有较高的灵敏度，也就是说比比值低的更容易检测。

$$\gamma = 2\pi\mu/hI \qquad (1)$$

NMR 实验包括应用射频（rf）辐射脉冲激发核子从一个能级跃迁到另外一个能级。这些能量状态的能量差为

$$\Delta E = h\nu = \gamma B_0/2\pi \qquad (2)$$

式中：B_0 为施加磁场的强度。对于氢核（^{1}H）或质子来说，一般是指 11.7T（1T = 10^4G）的外加磁场对应于 500MHz 左右的射频相应的能量差（通常磁铁强度是指质子共振频率，因此 11.7T 磁铁也称为 500MHz 磁铁）。式（2）中已知核子的 γ 决定静态 B_0 和核磁共振频率 ν 的关系。NMR 一般认为是比较不灵敏的波谱方法之一，质子自旋态的粒子数在 10T 磁场中的差别约为 1/10 000。这意味着与其他谱学（如 IR 和 UV）相比，仅有 0.01%的样品产生信号。市场可售的超导磁铁超过了 21.1T（900MHz）的最新进展提高了 NMR 实验的灵敏度。

表 1 列出了药物研究中一些观测到的核子的重要特征。注意一些元素（如氢）有不同磁活性的同位素，它们具有不同的特征。有趣的是，^{3}H 的灵敏性比任何其他核都更高，但是由于放射性同位素的复杂性，它的使用有限。表中列出的绝对灵敏度考虑到了同位素的天然丰度。通过化学方法纳入 ^{13}C 及 ^{15}N 等磁活性同位素会提高灵敏度。

表 1 制药研究中重要核素的性质

核素	自旋	天然丰度/%	相对灵敏度[1]	绝对灵敏度[2]	磁旋比	在 11.7436T 时 NMR 频率/MHz
^{1}H	1/2	99.985	1.000 00	1.00	26.7515	500.000
^{2}H	1	0.015	0.009 65	1.45×10^{-6}	4.1065	76.753
^{3}H[3]	1/2	0	1.213 54	0	28.5343	533.320
^{13}C	1/2	1.108	0.015 91	1.76×10^{-4}	6.7281	125.752
^{15}N	1/2	0.366	0.001 04	3.81×10^{-6}	−2.7126	50.699
^{19}F	1/2	100	0.834 00	8.34×10^{-1}	25.1808	470.642
^{31}P	1/2	100	0.066 52	6.65×10^{-2}	10.8391	202.589

1）对于在恒定场和相同核数时，相对于 $^{1}H=1$ 所表达的灵敏度。

2）绝对灵敏度＝相对灵敏度×天然丰度。

3）^{3}H 有放射活性，其半衰期为 12.3 年。

基本的 NMR 实验可用图 1 中的矢量模型简单描述。在这种模型中，主体磁化矢量表示与外磁场同向的稍多的核子列在 z 轴上。与磁场垂直的 rf 脉冲效应将矢量位于横向（x，y）平面内。在横向平面内，核自旋给予了每个核子在不同化学环境的进动频率，也就是说，每个不同化学类型的核子有独特的进动频率。检测到的信号是每个产生进动自旋的余弦调制振幅的总量。这种信号的 Fourier 变换

产生了常见的 NMR 波谱。波谱包括了宝贵的结构信息，如化学位移、标量偶合、相对强度以及线宽。每个特征都将在下面讨论。

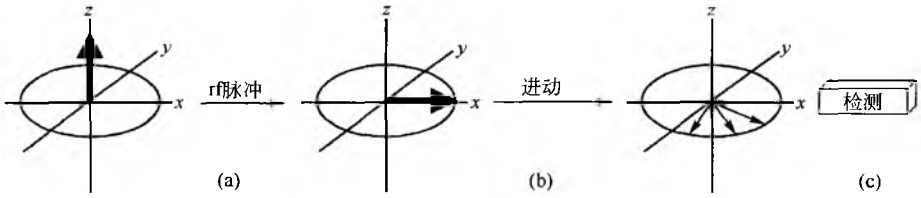


图 1 基本的 NMR 实验：(a) rf 脉冲使主体矢量倒向 xy 平面；(b) 独特的自旋按照化学环境所确定的频率开始进动；(c) 沿 x 轴检测到的进动自旋是余弦调制信号的总和，这些信号的 Fourier 变换产生了最终的波谱

2. 化学位移

当一个分子位于磁场中时，分子中的电子屏蔽了磁场中的核子。已知核子感受到的磁场是由外加磁场 B_0 和核屏蔽效应二者决定的。化学位移定义为施加磁场除以核的屏蔽。通常用合适的基准物测定，一般是在样品中添加已知化合物。化学位移用基准物共振频率的每百万分之几表示，用式（3）计算：

$$\delta(\text{ppm}) = [(\nu_{\text{sample}} - \nu_{\text{ref}}) \times 10^6]/\nu_{\text{ref}} \qquad (3)$$

对于有机溶剂中质子和碳原子的 NMR 来说，最常用的基准物是四甲基硅烷（TMS），四个等价甲基的信号为 0ppm。对于水溶液来说，最常用的是三甲基硅烷丙酸酯（TSP），三个甲基质子的信号也指定为 0ppm。在不同核子中化学位移的范围是非常不同的。^{1}H 的化学位移范围大约是 10ppm。相反，表 1 中列出的其他核子具有非常大的波谱色散。^{13}C 的共振一般是 250ppm 左右的波谱范围。对于 ^{15}N和^{19}F，典型的化学位移范围超过 400ppm。后者的宽的波谱色散对于减少波谱拥挤是非常有价值的。

3. 标量偶合

NMR 波谱的信号可显示相邻核子通过键相互作用的特征图形。这种现象称为标量偶合。图 2 中布洛芬的质子波谱有 6 组不同化学环境的质子。每个化学位移的信号根据标量偶合裂分成多个线。这种裂分是由于相邻磁偶极（自旋）的相互作用产生的。比如，布洛芬 C_3 的甲基质子邻位于 C_2 的亚甲基质子。任何时候亚甲基质子或与磁场同向，或与磁场反向。核子的两个取向导致了甲基有效场的两个贡献，所以甲基具有双峰。峰的分离称为偶合常数。标量偶合的一般规则是多重峰的数量等于 $2nI+1$，n 是相邻等价核子的数量，I 是核自旋。因此，C_2 次甲基的四重峰是由于三个等价的甲基质子偶合产生的。每个成分多重峰的强度符合 Pascal's 三角模型。双峰的峰比例是 1∶1，三重峰是 1∶2∶1，四重峰是 1∶3∶3∶1 等。在高度拥挤的波谱中，简单的 $2nI+1$ 规则被打破了，可以观察到更复杂的形态。Friebolin 书中第四章详细解释了这些复杂的形态[1]。产生信号多样性的标量偶合效应提供了非常有用的与化学结构有关的信息。

标量偶合数据也产生了有价值的立体化学信息。下面的 Karplus 等式提供了三键标量偶合常数 J 和两个质子间的二面角 ϕ 间的定量关系[2]：

$$J_{\text{vicinal}} = 4.22 - 0.5\cos\phi + 4.5\cos^2\phi \qquad (4)$$

在这个例子中，以上系数对于 H—C—C—H 偶合已根据经验进行优化。值得一提的是式（4）中每个偶合常数有两个可能的二面角，但是立体化学论据足以判断简单的构象。

4. 积分

在 NMR 波谱中信号的另外一个重要特征是它的积分。不像其他分光光度法，NMR 中检测到的信号直接与产生信号的核子数量成正比。该特征在 NMR 波谱的解释中是非常有用的，由于信号的相对积分直接和分子中产生这些信号的核子相对数量有关。布洛芬信号的积分值参见图 2 的化学位移轴下。积分的定量解释的问题是不同的核子在脉冲之间需要不同的弛豫时间以达到平衡。当脉冲间的信号不能完全弛豫时，随后脉冲的 xy 平面的磁化数量会减少，因此积分值减小。在布洛芬波谱中该效应使得积分偏离预期的整数。NMR 信号准确可靠的定量需要脉冲长的延迟。后面会对弛豫详加解释。

5. 弛豫

当 rf 脉冲将磁化矢量转移到横向平面，自旋开始进动后，核子弛豫也开始将信号后退到 z 轴平衡。能量转换影响弛豫的机理以及机理发生的速率是非常有用的参数，能被实验测定。有若干不同的弛豫机理，在特定的条件下，有些重要，有些不太重要。在溶液研究中，偶极－偶极弛豫机理是最重要的。分子中的任何核子都被运动着的其他偶极核子包围。这种运动导致磁场的波动，引起核子的跃迁和弛豫。因此偶极弛豫高度依赖分子的运动。自旋-晶格（T_1）、自旋-自旋（T_2）以及 NOE 效应这三种主要的弛豫形式在溶液状态的结构研究时非常重要。以下讨论这三种机理以及对分子结构分析的影响。

自旋-晶格弛豫时激发的自旋对周围（晶格）释放能量。当分子以研究的核子共振频率接近的速率运动时，这种类型的弛豫非常有效。分子运动速率用相关时间 τ_c 表示。

Z

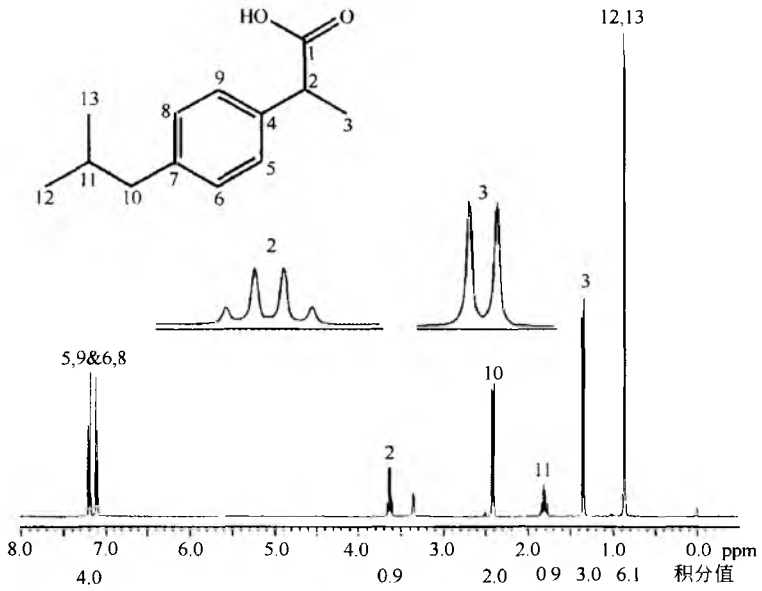


图 2 布洛芬的一维^1H 谱（600 μL 的 DMSO-d_6 中含 5mg 布洛芬，25℃，400MHz）。在每组信号之上给予峰的指认。因为质子与 C_2 和 C_3 相连出现的多重峰扩张证实了标量偶合的 $2nI+1$ 规则。在化学位移下给予积分值。注释羟基质子在 11.1 ppm 的峰并未显示。水、DMSO-d_6 和 TMS 分别在 3.3 ppm、2.5 ppm 和 0 ppm 出现小峰

相关时间近似于

$$\tau_c = 4\pi\eta a^3/3kT \quad (5)$$

式中：η 为溶液的黏度；a 为分子的半径。经典有机溶剂中相关时间的近似值来自于相对分子质量（M_w），如

$$\tau_c \approx M_w \times 10^{-12} \quad (6)$$

对于 11.7T 磁场中的质子，当相关时间在 500×10^{-6} s 时 T_1 弛豫是最快的。T_1 对相关时间的依赖性见图 3。在经典的有机溶剂中，分子质量为 1～2kDa 时 T_1 可达到最小值。

在获得定量积分时，T_1 弛豫时间是关键的弛豫参数。使用 90°脉冲后要发生完全的弛豫，推荐脉冲间的延迟时间约为 $5\times T_1$，但对于非定量分析，时间可接近于 $1\times T_1$。事实上，经常使用小于 90°的脉冲，在较短时间内可允许更多的定量波谱。小分子（$M_w<1000$）的质子，典型的^1H T_1 弛豫时间从小于 1 秒到几秒不等。对于^{13}C 来说，弛豫时间较长一些，有时大于 60s。准确的^{13}C 积分需要长的延迟限制了定量^{13}C NMR 的实际应用。使用反转-回波实验可容易地测定 T_1 时间，信号的强度可以用一系列脉冲和延迟调节[1]。信号强度作为延迟函数的曲线可得 T_1 值。

自旋-自旋弛豫过程没有净能量的得失，但是自旋失去了相位的相干性。这种弛豫的基础是通过波动磁场能量从一个质子转移到另外一个质子。当一个自旋激发到较高的能级，另外一个就会弛豫到较低的能级。这些跃迁的结果就是特定类型自旋相位的扩展或是失去同相。当自旋连续失去同相时，它们最终会彼此抵消导致信号的消失。

T_2 主要与 NMR 信号在半高处（$\Delta\nu$）的线宽有关：

$$\Delta\nu_{12} = 1\pi T_2^* \quad (7)$$

T_2^* 用来表示磁场不均匀性对 T_2 的贡献。当磁场不完全均匀时，同一样品中不同位置的同一种质子所受的磁场的细微差别会引起进动频率的细微差别。当特性 T_2 进行时会引起同样的相位相干的丢失。T_2 弛豫时间可以用自旋-回波实验测定，这会消除场的不均匀性的贡献。这些实验在 Friebolin 书中有详细记载[1]。

和 T_1 弛豫一样，T_2 弛豫也依赖于分子关联时间。和 T_1 弛豫不一样，T_2 弛豫不能达到最小值，因此增加接着减小，如图 3 所示。因此，运动慢的大分子具有较短的 T_2 时间。在大分子或固态分子中这是一个挑战，因为信号周期非常短而线宽很宽。

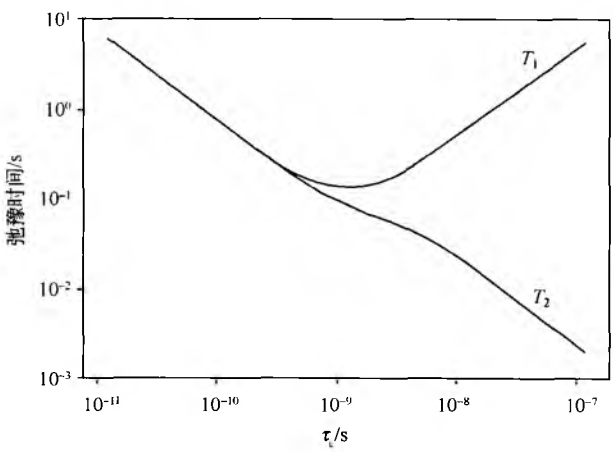


图 3 T_1 和 T_2 弛豫对相关时间的曲线。在 11.7T 的磁场中分离距离为 2.0 Å 的两质子间有偶极弛豫，由计算机计算得出两者的曲线

NOE 效应是结构研究中被广泛测定的弛豫现象。NOE 实验直接测定了核子之间偶极-偶极弛豫。NOE 最大的用处就是测定核之间的距离。NOE 的大小正比于 r_{IS}^{-6}，r_{IS} 是

自旋 I 和 S 之间的距离。NOE 影响到特定信号强度的增强或减弱，这都是基于相邻质子的空间距离以及分子的动力学。对于 NOE 物理基础的较完整的记载可参考 Neuhaus 和 Williamson 的教材[3]。

NOE 对分子运动的依赖性见图 4。注意 NOE 信号和大小都是相关时间的函数。NOE 重要特征是特定的滚动运动形式的分子，NOE 穿过零点。这对于与药有关的化合物都是非常重要的，由于一些分子质量为 1～2kDa 的分子在黏性溶剂（如 DMSO）中的滚动速率使得 NOE 接近于零。在这种状态下观察不到 NOE，这与分子结构无关。这类研究其他的 NOE 形式更加有用。旋转坐标 Overhauser 效应（ROE）也是偶极弛豫的函数，但是仅在不同的实验条件下发生[4,5]。ROE 的优势就是这种效应不会穿过零点。ROE 实验比 NOE 实验难建立，而且定量解释更难，但是 ROE 在许多药物的结构分析中非常有用。

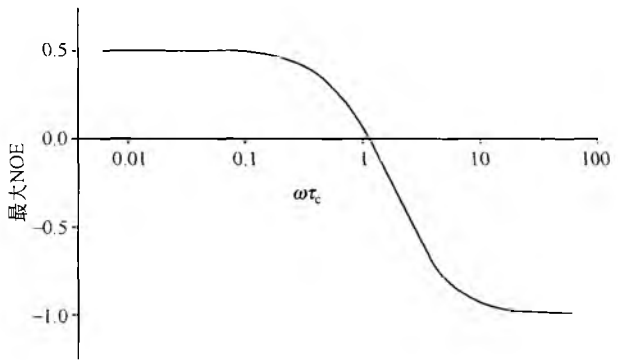


图 4　最大 NOE 对 $\omega\tau_c$ 的曲线。ω（$=2\pi\upsilon$），核的进动频率；τ_c，相关时间。对于在 11.7T 的磁场中分离距离为 2.0 Å 的一对质子，由计算机计算得曲线

NMR 技术

数十年来 NMR 已经成为化学家分析工具的组成部分。最普通和基础的实验是一维（1D）^{1}H 实验。^{1}H 核子的相对高度灵敏性使得它是非常有用的入门技术，但对于复杂分子，1D 波谱有点拥挤而且无法解释。这样可以使用更加先进的技术提高分离度以及提供特定类型的结构信息。在本章节我们讨论一些 NMR 技术，从简单的 1D 实验到复杂多维多核实验。本章节的重点是这些实验的一般原则以及对相关药物分子的应用。这些实验更加详细的资料可见参考书。

1. 一维实验

一维 NMR 波谱提供了有价值的信息，对于简单分子给出了足够的完整结构特征。5mg 布洛芬样品的 ^{1}H 谱在 1min 内即可完成，见图 2。由于该分子相对简单，所有 ^{1}H 共振都可以通过观察得以指认。药物分子的全部特征的确定需要 ^{13}C 化学位移。由于它的相对较低灵敏度和低的天然丰度（表 1），^{13}C 谱比起 ^{1}H 谱需要更长的采样时间。图 5 是 5mg 布洛芬在 30min 内的 ^{13}C 谱。^{13}C 宽的化学位移使得峰的分离度较好。在整个试验中波谱需要质子去偶，这使得 ^{13}C 多重峰都集合成单峰。而且由于 ^{1}H－^{13}C NOE，^{1}H 去偶使得信号加强了 200%（异核 NOE 的详细内容参见参考文献[3] 中的第二章）。对于相对简单的化合物，只要具有足够的样品量，它们的 1D ^{1}H 和 ^{13}C 谱都可有明确的赋值。

对于一些天然产物、代谢物、降解产物的样品，它们的量都远小于 5mg。在这种情况下，^{1}H 谱是必需的，但是获得 ^{13}C 谱是不可能的。NMR 波谱的信噪比（S/N）和样品成正比，与扫描次数的平方根成正比。如果样品浓度减少 100 倍，扫描次数增加 100^2 倍也可获得相同 S/N 的波谱。

2. 自旋极化转移

建立一些增强信号的方法有助于克服一些重要核子（如 ^{13}C 和 ^{15}N）的固有的低灵敏度。这些实验基于自旋极化转移的原理，将较高灵敏度核子（通常是 ^{1}H）的磁化通过特定的脉冲序列和延迟传递给有关的相邻核子。通过极化转移获得的信号的加强正比于 γ_I/γ_S，I 和 S 分别代表丰富的和稀少的自旋。这相当于 ^{13}C 的 4 倍以及 ^{15}N 的 10 倍（表 1），能极大地节约采样时间。极化转移实验也能基于质子较短的 T_1 弛豫速率而使用较快的重复速率以提高总的灵敏度。溶液 NMR 中极化转移使用的两种方法是 INEPT（insensitive nuclei enhanced by polarization transfer）实验[6]以及 DEPT（distortionless enhancement by polarization transfer）实验[7]。后面的实验提供了波谱编辑的外加特征，如产生单一波谱能获得不同碳类型的亚波谱，在此，甲基碳和次甲基碳共振正相，和亚甲基碳共振反相。季碳在实验中无法观察到，因为信号取决于碳上质子的极化转移。

3. 二维实验

当分子的尺寸和复杂性增大时，质子 NMR 波谱变得拥挤而且很难解释。甾体是一类普遍的药物相关的化合物，提供了拥挤波谱的较好例证。甾体 ^{1}H NMR 谱一般包括 1～4 ppm 的区域作为亚甲基重叠峰包，保留了大部分的质子信号[8]。在这种状态，用二维（2D）NMR 将信号拓展到第二个空间，可以提高分离度。最简单的 2D 实验是 COSY（correlation spectroscopy）实验。COSY 波谱的特征是两类峰：沿着对角线的峰及偏离对角线的交叉峰。对角线实质是 1D 波谱，交叉峰意味着在交叉峰对应化学位移的两个共振之间的标量偶合关系。图 6 是度他雄胺高度拥挤区域的双量子滤波 COSY 光谱。双量子滤波 COSY 是 COSY 实验的简单改进，除其他优势中，还产生了较窄的对角线峰，使得接近对角线的交叉峰更好地被分离[9]。注意波谱中交叉峰的特征是具有特定图形，含有相关质子间存在标量偶合信息。COSY 波谱从高度拥挤的波谱中能提供连接性以及标量偶合常数，后者通常不是直接获得的。

TOCSY（total correlation spectroscopy）是另外一种重要的同核 2D 相关实验，这种关联是由于同核的标量偶合而产生的[10]。在标准的 COSY 实验中，自旋会出现交叉峰，自旋标量偶合通常发生在 2～4 个键。在 TOCSY 实验中交叉

Z

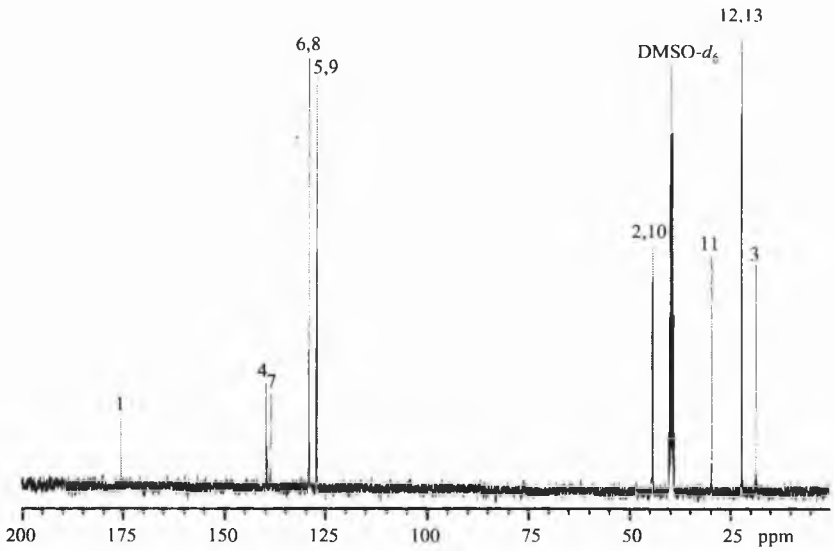


图 5 布洛芬的^{13}C NMR 谱（25℃，100 MHz，600 μL DMSO-d_6 中含 5mg 的布洛芬）。峰的指认在信号之上；编号对应图 2 中的化学位置。注：C_2 和 C_{10}重叠

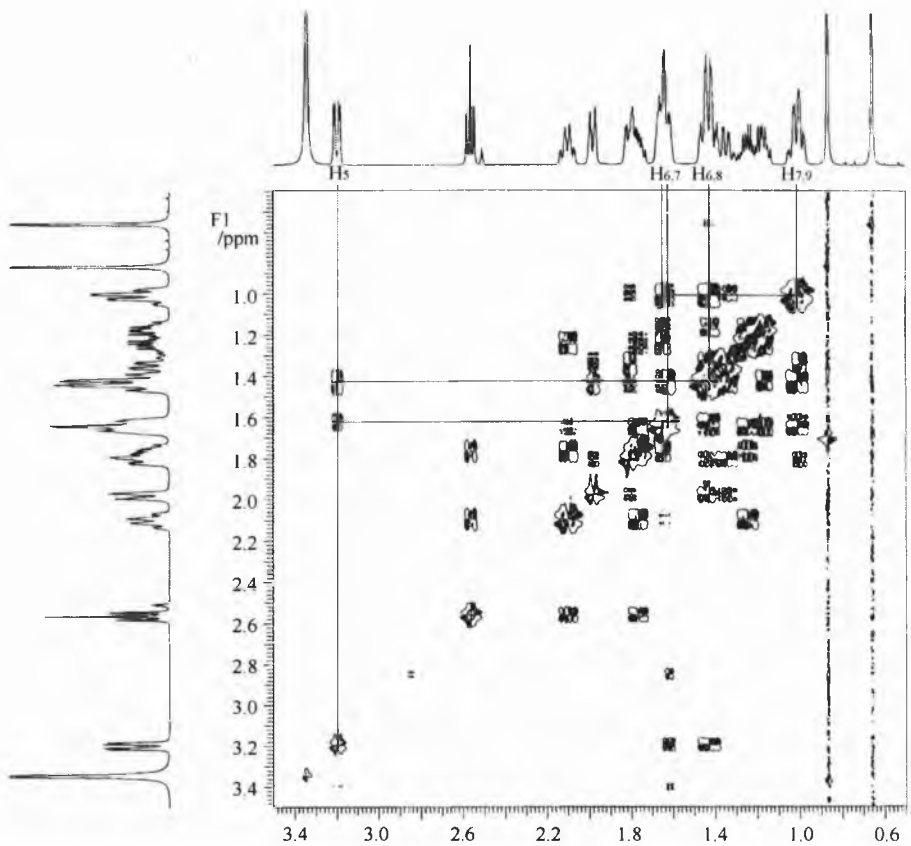


图 6 DMSO-d_6 中度他雄胺 DQF-COSY 波谱的脂肪族区域。相互关系显示在毗邻质子间存在标量连接且易于进行质子共振的指认，始于 H_5 并追踪全部自旋系统（结构和数字图见图 10）。由于共振重叠使全分析复杂化

峰出现在许多键分离的自旋中，只要它们是偶合自旋连续网的一部分。相关是由于施加连串低能量 rf 脉冲，这称之为自旋-锁定。自旋-锁定的作用时间决定了相关在自旋系统中的传播程度。TOSCY 实验是 COSY 方法有用的补充手段，它可以用来解释复杂结构。

NOESY（nuclear overhauser enhancement spectrosco-

py）提供了空间邻近核子间的相关。使用一次一个信号选择性地激发进行 NOE 实验，能推测选择峰邻近的质子，NOESY 实验则能推断同一实验中所有自旋间的 NOE 信息。NOESY 实验中的交叉峰说明质子相互接近。一般 NOE 交叉峰在分子中质子间小于 5 Å 时能观测到。图 7 中显示了度他雄胺的 NOESY 波谱，突出了几处主要的相关。该实验的结果使得分子中所有质子做完全的立体化学赋值。

二维实验也显示了不同类型的核子间的关联。这些异核实验的优势就是如^{13}C和^{15}N的核具有较宽的化学位移范围，而且 2D 实验能大大降低波谱拥挤。HETCOR（heteroneclear correlation）是首次建立的提供了^{1}H和^{13}C之间的相关的 2D 实验。在该实验中，磁化矢量通过键的标量偶合从一个质子传递到相连的碳上，这与 DEPT 实验相似。优化修改采集参数，使得质子由较小的多键异核标量偶合常数相关到相隔多个键的碳原子。多键相关和单键相关的结合可将分子各部分合并起来，成为完整的结构推导或波谱的赋值。虽然他提供了重要的 C—H 连接信息，但 HETCOR 实验受困于较弱的灵敏度，这是由检测碳信号引起的。

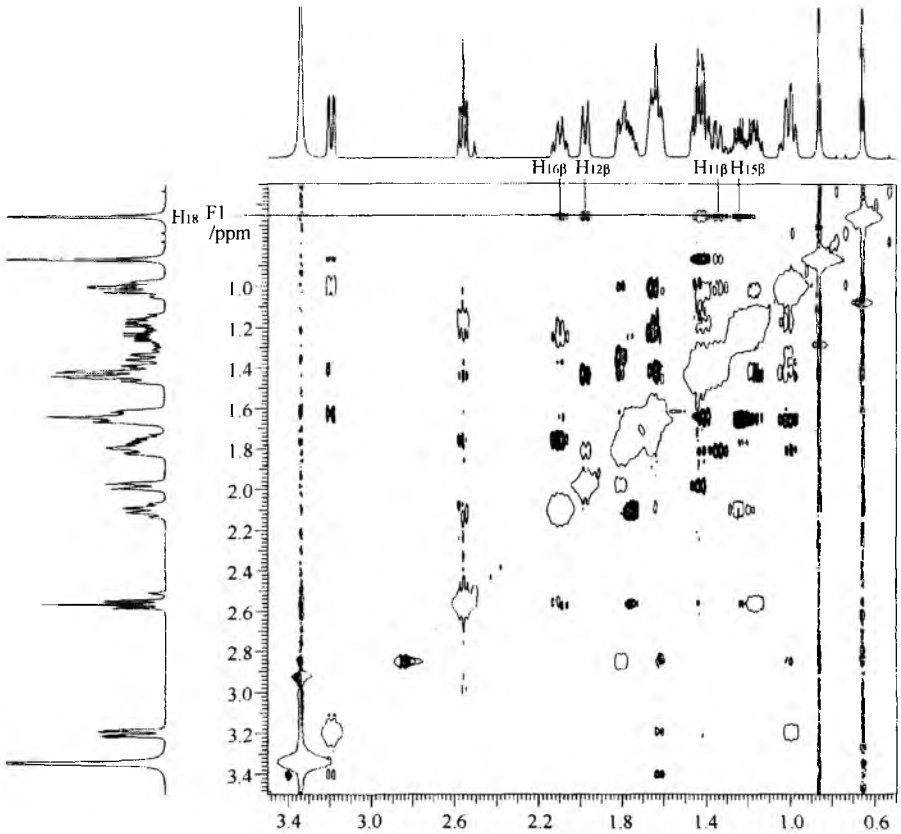


图 7　DMSO-d_6 中度他雄胺 NOESY 波谱的脂肪族区域。相关显示毗邻核间存在的空间相互作用并用于建立相对的立体化学的质子共振赋值。明确 H_{18} 甲基和在甾环系统中同侧的临近质子间的相互关系

4. 反向检测实验

反向检测实验是指一系列的脉冲和延迟将磁化矢量从^{1}H转移到连接的 X 核（一般为^{13}C或^{15}N），接着回到^{1}H检测。这样，实验使得灵敏度维持在与标准^{1}H实验接近的水平，意味着 HETCOR 实验的显著改进。该类实验的第一个就是 HMQC（heteronuclear multiple quantum coherence）实验[11]。图 8 显示了度他雄胺的 HMQC 谱。使用该实验能分开重叠的质子共振，原理是将它们分散在碳的化学位移方向，并在已知的质子的位置指定碳的位置，反之亦然。可明确一些主要相关。注意不等价的亚甲基质子容易被识别，因为它们显示了同碳的相关。该实验包括了与 HETCOR 同样的信息，但是等价 S/N 的波谱能在^{1}H-^{13}C相关联的 1/4 时间和^{1}H-^{15}N相关的 1/10 时间获得。由于^{15}N本来的低灵敏度，直接观察^{15}N很难，反向检测方法使得^{1}H-^{15}N相关更加易行。Martin 最近的综述研究关于在天然产物的结构测定中使用^{1}H-^{15}N反向检测实验[12]。

HSQC（heteronuclear single quantum coherence）实验是另一种广泛使用的反向检测实验[13,14]。它提供了如同 HMQC 一样的信息，但是取决于脉冲不同的序列，以影响^{1}H和异核之间的磁化矢量的转移。在某一天然产物的研究中，HMQC 和 HSQC 的直接比较说明了后者的一些优势，就是改善了灵敏度，交叉峰变窄，从而提高了分辨率[15]。

反转检测实验可以获得质子与异核远程连接的大范围质

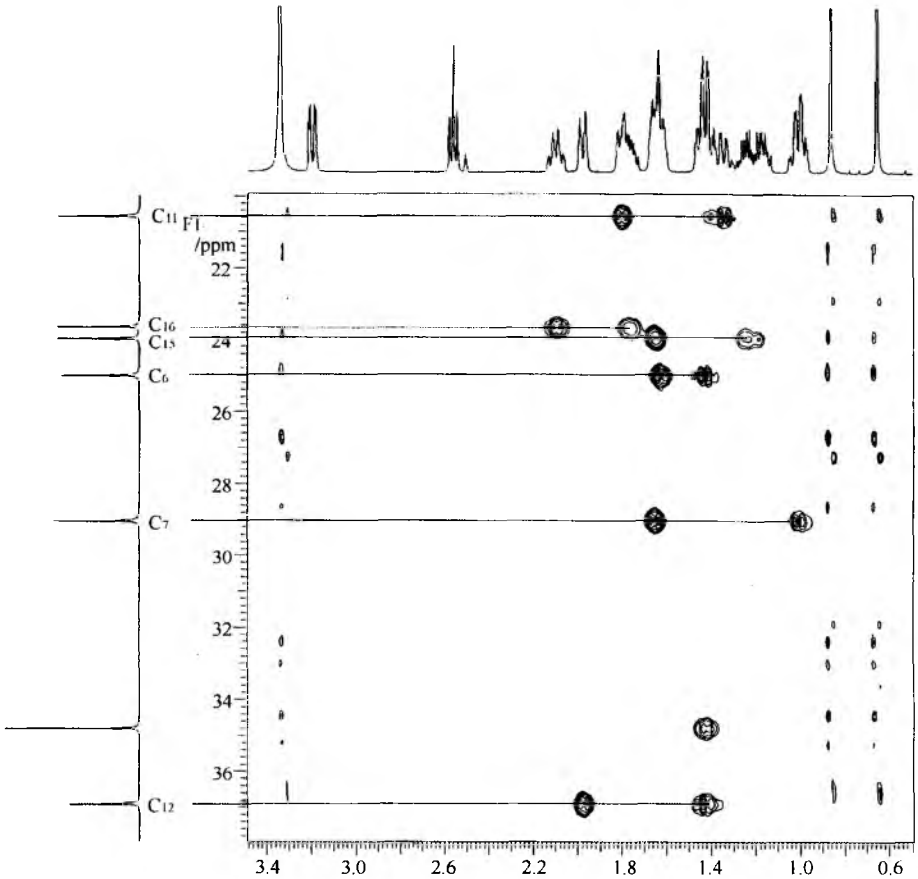


图 8 DMSO-d_6 中度他雄胺 HMQC 扩展波谱显示了用于辨别一对亚甲基质子及基于质子指认而进行碳共振指认的异核相关。由于有两个具有不同化学位移的质子与同一个碳原子相连，故六对亚甲基质子易于明确鉴别（关于结构和数字图见图 10）

子。HMQC 的改进是 HMBC（heteronuclear multiple bond coherence）实验，可以通过基于多键偶合值的多键转移进行优化[16]，一般三键 ^1H-^{13}C 偶合大约 8Hz。度他雄胺的 HMBC 波谱见图 9，该图阐述了该实验用于定位季碳，将分子中孤立的自旋系统（如 H_{18} 和 H_{19}）和其他自旋系统联系起来，进一步核实 COSY 和 HMQC 波谱的定位。

最近几年在改进 HMBC 序列中可见大量的活动包括折叠类型实验。优化这些实验可用于大范围异核偶合的转移（如 2～25Hz），并能提供 2～4 个键的 H—C 相关。折叠实验能用于一些复杂天然产物的解析。这些实验的详细资料以及特有的优势见最近的一篇综述[17]。

对于药物学上的一些小分子，前述的一系列 NMR 实验已能获得绝大多数信息，即使不是全部的话，足以完全解释 ^1H 和 ^{13}C NMR 谱以及完全能推断分子的结构。该类型的分析结果归纳在图 10、图 11 中，典型的是它们为何经常需要修正。

5. 多维实验

分子结构是非常复杂的，因此 NMR 谱也变得越来越复杂。在大分子如蛋白质中，二维常常不足以提供必要的分辨率以利于解释。这导致了三维（3D）实验的建立[18]。在这些实验中共振拓展到了第三个空间，波谱图呈立方形。异核三维实验的实例包括 HMQC-COSY 以及 HMQC-NOESY，COSY 或 NOESY 波谱的交叉峰在第三空间根据它们各自的碳化学位移进一步分开[19]。四维（4D）实验也能经常用于蛋白质的研究，在一次（三共振）实验中可得 ^1H 与 ^{13}C 和 ^{15}N 之间的相关。这些波谱图可看作立方形，立方形中的每一个片又能拓展到其他的立方形。蛋白质研究常常包括综合使用 ^{13}C 和 ^{15}N 同位素这大大提高了耗时的三维和四维实验的灵敏度。多维实验的详细描述以及应用于蛋白质结构的解析见 Clore 和 Gronenborn 的综述[20]。

6. 脉冲梯度场

这些年 NMR 最重要的发展之一就是脉冲梯度场的应用（PFG）[21]。PFG 用于磁共振成像方法已经很久，但是仅在十年前该技术才开发用于高分辨 NMR。PFG 包括一个额外磁场，它施加于依赖空间状态的样品。它使相位移动产生特定的信号，这与样品的位置有关。PFG 在高分辨 NMR 中有很多使用价值。它们也能通过选择性地失相以消除一些不需要的信号。同样也能通过一对梯度对做信号选择，第一个梯度使所有自旋失相，第二个梯度优化再聚焦选择的自旋。脉冲序列中 PFG 的明智使用使得波谱更加清晰、瑕疵更少。

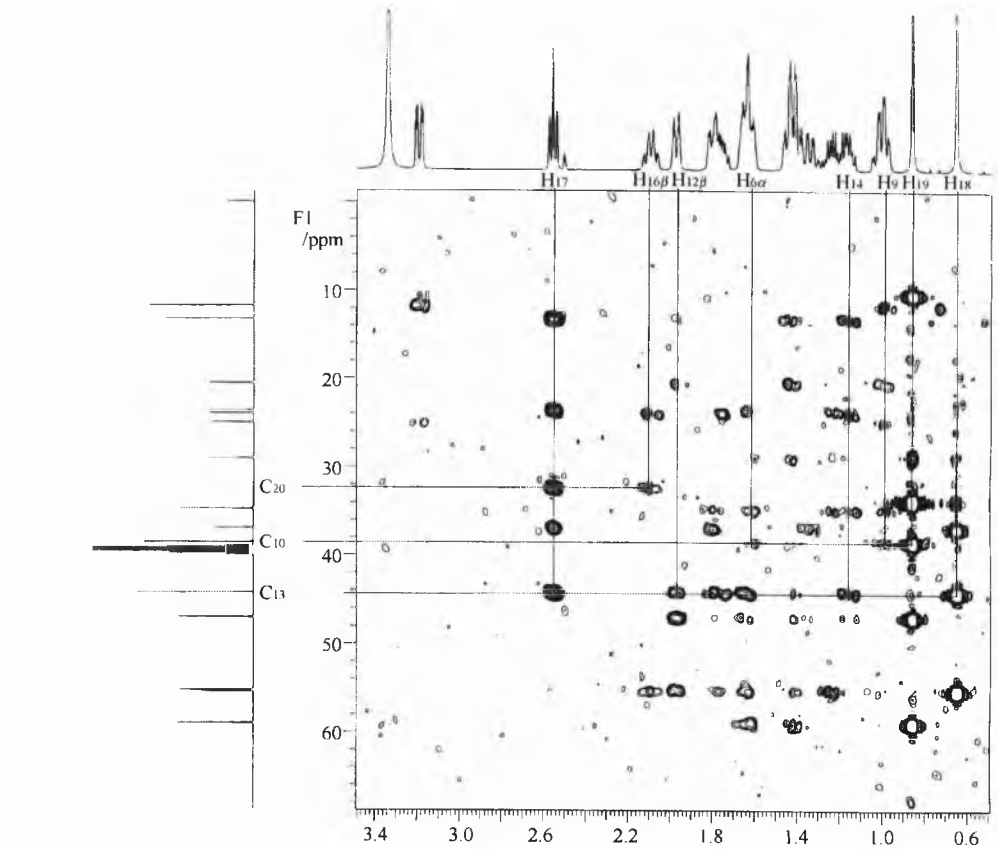
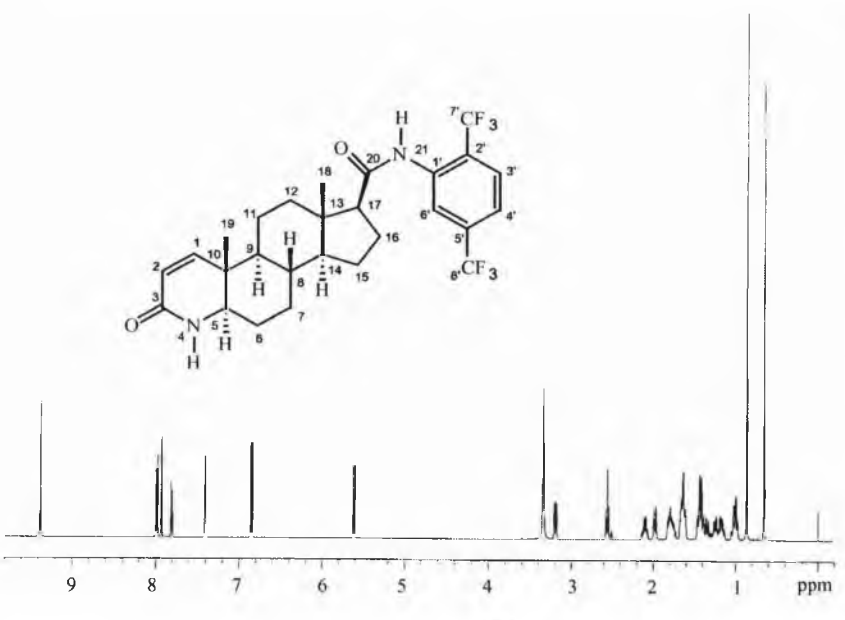


图 9　DMSO-d_6 中度他雄胺 HMBC 扩展波谱显示了用于指认季碳共振的多重键相关。突出显示了用于指认 C_{10}、C_{13}和折叠在^{13}C 维中的 C_{20}羰基共振间的相互关系。图谱中的其他相关用于确证由其他实验结果得来的共振指认

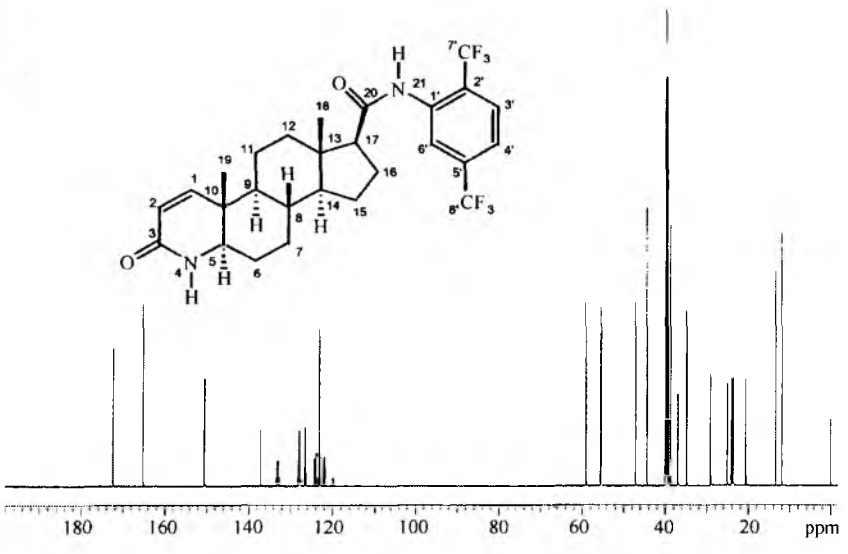


$\delta^{1)}$/ppm	多重峰[2)]	积分	定位量
9.38	s	1	21
7.99	d	1	3′
7.93	brs	1	6′
7.81	d	1	4′
7.40	d	1	4
6.85	d	1	1
5.62	dd	1	2
3.20	dd	1	5
2.56	t	1	17
2.10	m	1	16β
1.98	rn	1	12β
1.80	m	1	11α
1.76	m	1	16α
1.65	m	2	7β, 15α
1.26	m	1	6α
1.43	m	2	8, 12α
1.42	m	1	6β
1.34	m	1	11β
1.24	m	1	15β
1.17	m	1	14
1.01	m	1	7α
0.99	m	1	9
0.87	s	3	19
0.66	s	3	18

1) 从 TMS=0.00 ppm 低磁场开始：DMSO-d_5 和 H_2O 分别出现在 2.51 ppm 和 3.34 ppm。

2) s=单峰，d=双峰，t=三峰，q=四峰，m=多重峰，br=宽峰。

图 10　^{1}H NMR 谱和 DMSO-d_6 中度他雄胺的特征



$\delta^{1)}$/ppm	多重峰$^{2)}$	$J_{^{19}F-^{13}C/Hz}$	定位量
172.33	s	—	20
165.07	s	—	3
150.38	s	—	1
136.95	q	1.7	1′
132.89	q	32.6	5′
127.85	q	5.2	3′
127.83	q	29.6	2′
126.37	q	3.5	6′
123.09	q	273.1	8′
123.07	s	—	2
122.97	q	3.4	4′
122.77	q	273.9	7′
59.02	s	—	5
55.37	s	—	17
55.23	s	—	14
47.04	s	—	9
44.25	s	—	13
38.58	s	—	10
36.91	s	—	12
34.80	s	—	8
29.03	s	—	7
25.01	s	—	6
23.98	s	—	15
23.66	s	—	16
20.56	s	—	11
13.29	s	—	18
11.77	s	—	19

1）从 TMS=0.00 ppm 低磁场开始；DMSO-d_6 出现在 39.47 ppm。

2）从^{19}F 出现偶合，s=单峰，q=四峰。

图 11 ^{13}C NMR 谱和 DMSO-d_6 中度他雄胺的特征

PFG 的其他重要使用是扩散过程的研究。相反信号的一对 PFG 通过延迟时间分离可用于分析分子的扩散。如果在扩散过程中分子显著移动，则第二梯度就不能有效聚焦这些自旋，那么该分子的信号就会被削弱。首先讨论 PFG 扩散研究在高通量筛选中的使用。

NMR 应用

NMR 技术为药物工业中 NMR 的进一步的应用奠定了基础。该技术的挑战导致了硬件的优化、设计实验解决特定的问题。一些非常重要的问题以及能解决它们的 NMR 应用将在下面讨论。

1. 少量样品的分析

1.1 小体积 NMR 探头

一些样品如代谢物、降解产物以及天然产物的分离和纯化非常费力，通常能得到非常小的量。NMR 的灵敏度相对于其他结构分析方法（如 UV、IR 以及质谱）是非常低的，但是大量的信息导致增加了检测的限制，使得它成为非常活跃的、有价值的研究。传统提高灵敏度的方法是增加样品浓度或磁场强度，但是最近几年 NMR 探头的优化取得了显著的成绩。NMR 探头包括 rf 脉冲传递以及 NMR 信号检测的硬件。直至最近，5mm 样品管，样品体积为 500～600 μL，这仍是溶液 NMR 研究的标准。样品的量很小导致样品的稀释。现今商业化的 NMR 探头的样品管可为 1.7mm，样品体积降到 30 μL。NMR 检测线圈有效耦合于小体积的样品使得采样时间为原来的 1/8，这是与标准 5mmNMR 样品管作比较[22]。Sweedler 和同事进一步减小了样品的体积，他们最近设计了 200 nL 样品体积的微线圈探头[23]。样品体积的减小有效地提高了灵敏度，进一步的减少体积可能无效，因为常规处理这些样品具有困难。

1.2 低温探头

提高灵敏度的另外一个方法就是降低检测线圈的温度。Styles 和他的同事首次提出了在低温操作的线圈能获得本质的灵敏度的提高[24,25]。最近报道了高分辨 NMR 对天然产物的应用，与传统的探头相比，使用高温超导（HTS）材料的 rf 线圈的探头在 25K[26] 操作能将信噪比提高 3.5 倍。目前，高温超导探针的使用受到了限制，由于线圈的形状不能优化用于标准圆柱形 NMR 管。与降低 rf 线圈检测温度的概念相同，研发冷探头就是标准探头材料被冷却。探头冷却结合样品小体积的优化能进一步提高灵敏度。

2. 流动 NMR 方法

2.1 高通量 NMR

平行合成和组合化学的进展使得制药公司生产出大量的化合物。在先导物优化中，建立了成百上千化合物的库，结构确证是非常必要的。对于一个合成化学家，高分辨率 NMR 是可供选择的手段，但是制备成百上千 NMR 管的标准方法过于浪费时间。通过研制流动 NMR 系统可以解决这个问题[27]，它使用探头中特定的流通小池，因此样品能被注入 NMR 系统中，而不需要制备单个样品管。HPLC 类型的自动进样针与进样系统相连，使样品直接进入到探

头的流通小池中。这样，微量滴定板上的样品可用自动方式分析。做完波谱，液流逆流回到原来的位置或者到废液缸中。根据灵敏度优化这些探头，能检测从微克级到数百纳克级的小量样品。

2.2 LC-NMR

在制药工业中许多重要的化学难题包括复杂混合物的分析。低含量的代谢物以及药物杂质的鉴别通常需要高效液相色谱分离这些混合物或者从样品混合物中分离出相关的化合物。在这些分析中，低含量化合物能获得的结构信息受到检测类型的限制。HPLC 和质谱偶合是常规的，能提供有用的相对分子质量以及碎片信息，但是不能进行完整的结构确证。

最近 NMR 和 LC 偶合系统已经商品化[28,29]。波谱能通过连续或停流两种模式获得。在连续模式中，当分析物流经小池时可获得波谱。该方法灵敏度低，因为分析物在小池中停留时间较短，但是它的优势就是能连续监测 LC 峰。图 12（a）是维生素 A 乙酸酯异构体混合物的连续流 NMR 分析等高图[30]。图 12（b）是从等高图中截取的一部分。这些图突出了波谱的烯键区域，提供了足够的信息来确证每个异构体。对于非常有限的样品量，较普遍的 LC-NMR 分析方法是采用停流模式。分析物的峰停在小池中，因此任何标准 NMR 实验都可运行。

HPLC 和 NMR 偶合的难题就是常用的 LC 溶剂能产生强的背景信号。避免这个问题最简单的方法就是使用氘代溶剂，但是提供相对大量的溶剂比较昂贵。最近开发的溶剂抑制方法提供了降低完全质子化溶剂信号的完美手段。这些方法使用一系列选择性的脉冲以及脉冲梯度场，能同时抑制波谱中的多个溶剂信号[31]。当梯度洗脱方法用于 LC 分离时又出现新的问题，因为溶剂共振的化学位移会随着梯度混合物的改变而改变。这通过软件显示，能动态改变溶剂抑制方案，与溶剂共振的化学位移改变相一致。即使流动相完全是重氢溶剂，也需要溶剂抑制方法用于剩余质子化溶剂信号。

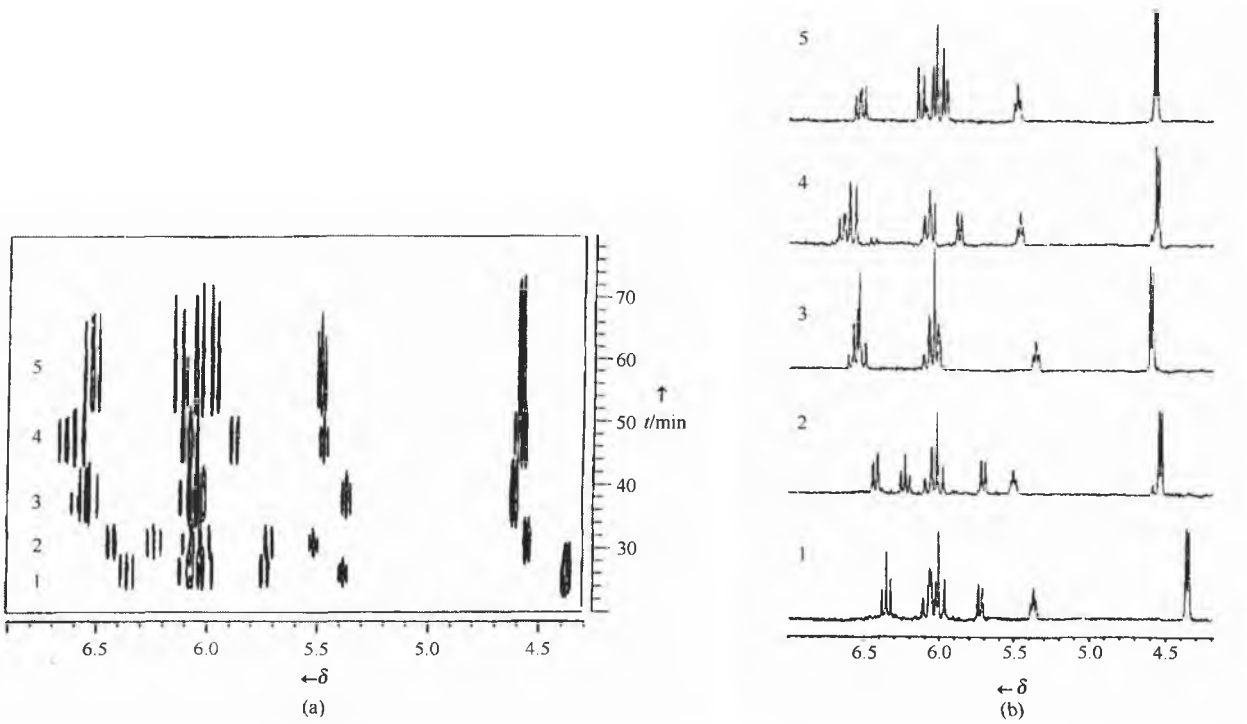


图 12 维生素 A 乙酸酯异构体混合物 LC-NMR 分析的等值曲线（400MHz）(a) 和通过等值曲线提取的薄片显示的混合物各自组成的图谱 (b)

2.3 LC-NMR-MS

与 LC 结合的分析方法采用了进一步的在线偶合 LC、NMR 以及 MS 系统，以最小样品提供最多信息[32,33]。该设备从单次 HPLC 进样获得了结构和分子的质谱信息。运行中的质谱仪靠近 NMR 磁场是该技术的障碍之一，但是最近通过磁铁的屏蔽，加入相反作用的磁场能大大削弱杂散磁场。NMR 和 MS 典型的装置是平行分流，小量样品进入 MS，剩余的进入 NMR 液流小池。这提供了两套同步数据，有利于解析。也避免了潜在的 NMR 和 MS 界面液流的反压问题。

3. 基于 NMR 的筛选方法

3.1 亲和 NMR

组合库合成产生的挑战之一就是从大量的分子中筛选大量具有一定生物活性的分子。简单的试验筛选分子混合

物常常导致错误的结果。在一些分析中，多重弱的作用的总和使得筛选给出了正向结果，实际上混合物中的单个分子都不适合进一步研究。最近开发大量基于 NMR 的实验，可以筛选复杂的混合物而不需要分离，也不会出现因弱的相互作用的额外效应产生错误的正向结果。筛选混合物的方法之一是亲和 NMR 或扩散编辑 NMR，它可选择性地只观察到混合物中和受体分子结合的配基[34]。选择过程基于在结合之时扩散速率的改变。

亲和 NMR 实验利用了分子与受体分子结合后其扩散速率被大大减弱的性质。如先前叙述，运用 PFG 使得所有 NMR 信号失相。在延迟时间后，应用相等但相反的 PFG 能重新聚焦只与受体结合的自旋。在梯度场间的延迟时间内没有结合的分子快速扩散，它们的信号会大大削弱。配基结合的定性级别是基于可观测的信号强度。虽然存在一些因素（如交换现象）使得扩散研究解释复杂化[34]，基于 NMR 筛选的相对简单性和非破坏性的本质使得它是药物发现中有用的工具。

3.2 转移 NOE 筛选

亲和 NMR 的另一种形式是基于转移 NOE[35]。正如先前讨论的，小的快速滚动的分子显示正的 NOE 效应而大的慢速滚动的分子显示负的 NOE 效应。一旦结合到大的受体，小分子持有受体的相关时间，产生了大的负 NOE 效应。分子从受体分离后，信号的强度一直被大的负 NOE 效应扰乱，但是快速小分子滚动速率获得了窄的线宽。NOESY 序列能用于这些研究，能选择性地显示负 NOE 信号。该方法的灵敏度能通过改变配基和受体的比例来调整。具有代表性的是当配基以 10～20 倍过量时允许实验用非常少量的受体进行。这是基于筛选的转移 NOE 的一大优势，尤其当受体是很难生产和分离时。

4. 生物分子 NMR 研究

4.1 蛋白质结构研究

由于尺寸和波谱的复杂性，蛋白质是 NMR 波谱学最具挑战的分子。正如先前讨论的，大量成熟的多维、多核 NMR 方法可用于蛋白质复杂结构的确证。蛋白质结构的确定一般分为四个基本步骤：第一步就是所有氨基酸共振的连接指认，使用跨键或跨空间实验。第二步就是使用三键标量偶合信息确定扭转角。第三步使用 NOE 效应确定跨空间相互作用。第四步就是基于结构限制（NOE 及扭转角）使用一个或更多的计算机精炼工具计算结构[20]。该过程需要大量的数据用于完全结构解析，这是非常耗费时间的。分子生物学的进展使得使用微生物系统蛋白质进行同位素标记很常见。^{15}N 和 ^{13}C 标记必需的三维和四维实验只需要几个小时而不是几天。目前可能确定蛋白质结构在 15～35kDa 范围内，相当于约 2.5Å 晶体结构的分辨。

4.2 蛋白质-配基相互作用

探察配基和受体之间相互作用的溶液 NMR 试验已经成为药物开发过程中重要部分。当蛋白质的结构完全由 NMR 确定时，一旦加入活性配基结合位点残基的化学位移就会发生微小的改变。使用 ^{15}N 标记的蛋白质获得的 ^{1}H $\{^{15}N\}$HSQC 波谱中能容易观测到这些化学位移的改变。该方法称为化学位移图示法，可用于证实蛋白质的结合位点，筛选活性配基，设计优化先导化合物。

最近低温探头技术已经用于高通量化学位移图示法研究筛选活性配基。低温探头灵敏度的提高使得即使非常低的蛋白质浓度也能获得蛋白质的 ^{1}H $\{^{15}N\}$ HSQC 波谱。既然该研究中添加分子的总浓度保持在合理的水平（约 5～10mmol/L），使用更低蛋白质浓度可用于更高的配基浓度。Hadjuk 和他的同事分析了紧密结合分子存在下 100 个化合物的混合物[36]。作者认为该策略可使多于 200 000 个化合物的数据库在 1 个月内测得。

4.3 用 NMR 研究结构-活性关系（SAR）

药物设计过程中基本的部分就是构效关系的研究。最近采用 NMR 方法建立 SAR[37]。在该方法中，从构建块中建立的配基优化用于结合到单个蛋白质亚单位。第一步是从库中筛选有机小分子结合到标记的蛋白质。在结合位点附近共振的 ^{1}H $\{^{15}N\}$ HSQC 波谱中观察 ^{15}N 或 ^{1}H 化学位移的改变能检测结合情况。一旦确定一个先导分子，就可以合成类似物优化结合。重复该过程证实结合发生在最接近位点的配基。最后分别优化的配基联系起来形成一个高度亲和的配基。使用该方法设计了免疫抑制蛋白 FK506 的配基，亲和力是 19nmol/L。

固体 NMR

多数药物最终是以固态制剂出现的，所以有必要确证固态的药物。许多的方法可用于研究固态药物，包括 IR、拉曼及 X 射线衍射，各具优缺点[38]。与液体 NMR 一样，固体 NMR 比其他方法提供了更多的结构信息。在本章中给出了固体和液体 NMR 的基本区别以及一些药物开发中固体 NMR 作用的阐述性实例。

1. 固体各向异性

简单在 NMR 管中放置固态药丸，得到的 1D ^{1}H 或 ^{13}C 谱的结果很差。得到的波谱一般都是线宽在几千赫兹的高度重叠信号的集合体。线变宽的原因是存在各向异性效应（方向依赖型），该效应在溶液中能平均化去掉，但是在固相中很显著。这些各向异性效应最重要的就是偶极-偶极相互作用。任何核的局部场 B_{loc} 都会受到相邻偶极的影响。式（8）是给定核 I 的效应，μ_s 是相邻核 S 的磁矩，γ_{IS} 是核 I 和 S 之间的距离，θ_{IS} 是核间矢量和静态 B_0 场的夹角。

$$B_{loc} = \pm \mu_S \gamma_{IS}^{-3} (3\cos^2\theta_{IS} - 1) \quad (8)$$

在溶液快速转动导致了局部场在各个方向的均化，产生的净局部场为 0。在固相中，均化过程不会发生，所有偶

极相互作用的总和得到的线宽的数量级为千赫。

固相 NMR 波谱宽重叠线的其他重要贡献就是化学位移各向异性（CSA）。正如先前讨论的化学位移受外加磁场对核电子屏蔽的影响。屏蔽的大小反映了磁场中分子的特定取向。如偶极相互作用一样，CSA 效应在溶液中均化至零，但是固相不行。CSA 角的依赖性也采用这种形式（$3\cos^2\theta-1$），θ 是 B_0 场与化学位移主轴（如羰基的 C—O 键）之间的角。在固体 NMR 中，偶极偶合和 CSA 的合并效应能产生巨大的谱线变宽。

2. 魔角旋转和交叉-极化

固相 NMR 挑战是要使得线宽变窄到一定程度，波谱能用类似溶液 NMR 波谱的方式解释。解决这个问题是当 θ 设置为 54.7°时将偶极相互作用的（$3\cos^2\theta-1$）依赖性以及 CSA 清零。如果样品的轴围着与磁场 B_0 成魔角方向旋转，晶体轴平均方向将大大减小魔角各向异性效应。^{13}C 和相连质子强的偶极相互作用仍使得谱线变宽，因此常常使用 ^1H 去偶以及魔角旋转获得 ^{13}C 谱线的变宽。

药物固体 NMR 中研究最为广泛的是 ^{13}C。溶液中 ^{13}C 的灵敏度非常低，固体 NMR 也受此困扰。而且，固体中 ^{13}C 核的弛豫时间很长，在给定时间内的扫描次数有限。为了加强灵敏度，提高重复速率，建立了交叉极化（CP）方法。CP 与自旋极化传递非常相似。使用 ^1H 和 ^{13}C 同时的 rf 脉冲将 ^1H 磁化矢量转移到 ^{13}C 上。这样，^{13}C 谱线强度大大增强，脉冲重复速率依赖于 ^1H 而不是 ^{13}C 弛豫。交叉极化魔角旋转（CP-MAS）实验在制药工业中是固体 NMR 实验的主要部分，并为许多更为先进的技术奠定了基础。

3. 固体 NMR 的应用

3.1 凝胶相 NMR

组合库合成主要依赖于固相合成方法。前面讨论过使用高通量流通 NMR 方法的库分析。这些分析依赖于从固相支持体上分开产物。有时分离反应非常苛刻，常常希望分析固相反应产物中仍与反应株相连的化合物。给定的反应株的大分子形态，使在 NMR 管中简单放置固相材料的样品给出的波谱图的线既宽又重叠。使用魔角旋转是为了将固相组合样品的线变窄[39]。当固相载体因溶剂膨胀时，它的性质既不是液相也不是固相的，使用术语“凝胶相”NMR。Fitch 和他同事使用该技术产生与 SPS 树脂相连的有机化合物的 500MHz 波谱，它的线宽为 4Hz[40]。图 13 显示了采用传统 NMR 方法以及魔角旋转的凝胶相样品的波谱。

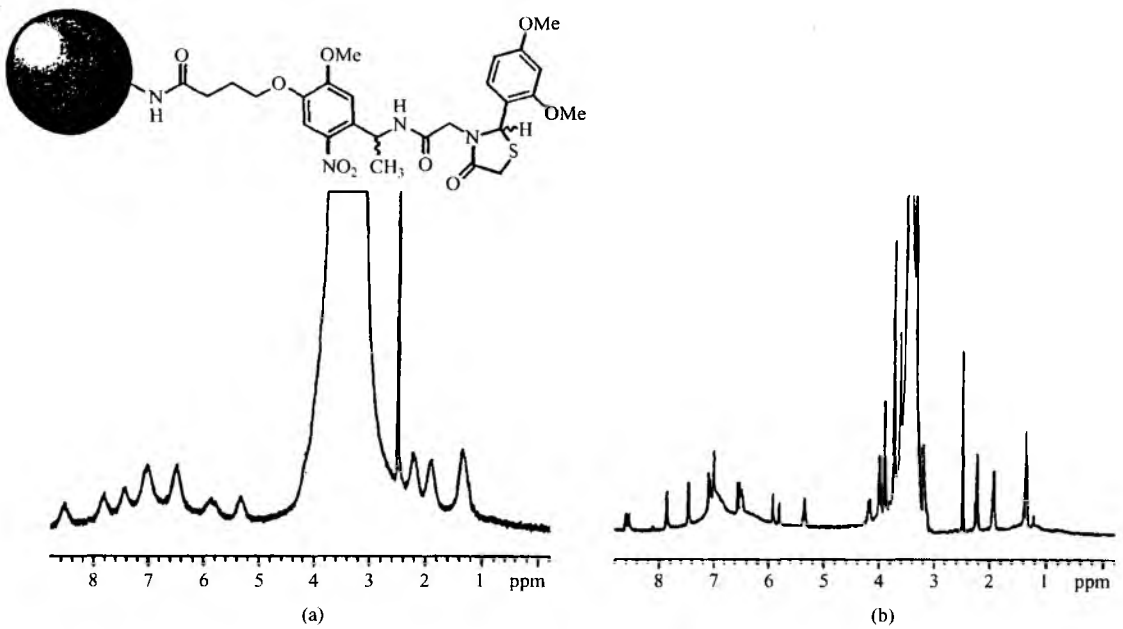


图 13 采用传统的 5mm 液体探针得到的凝胶状物质的 ^1H 谱图（600mL DMSO-d_6 中悬浮 100mg 样品，500MHz)[(a)] 和采用 Varian Nano-探针磁场角自旋（Varian NMR instruments Palo Alto, CA, USA）得到的同样样品的 ^1H 谱图（30mL DMSO-d_6 中悬浮 10mg 样品 500 MHz)[(b)][40]

3.2 多晶型研究

估计大约有 30%有机化合物的晶型有两种或多种形式，它们晶格的排列或构象不同[41,42]。药物的晶体形式对物化性质有很大的影响。相对密度、熔点、溶出速度、生物利用度以及制剂都在一定程度上受晶体形式的影响。多晶现象被看作是化合物以多于一个固相形式存在的能力，它有相同的化学物结构，但有不同的晶格。溶剂化物是多态现象的重要形式，晶格会随着溶剂的包容而改变。一旦多晶型式对物化性质产生影响，存在于药物中的所有多晶型式的鉴定对于相关管理部门都是必需的。

固相 NMR 在多晶态药物形式分析中成为非常有用的工具。使用 ^{13}C CP-MAS 波谱学鉴定单胞中结晶的非等价位点的数量，基于化学位移解释分子结构。图 14 显示了拉米

夫定两种形式固体的^{13}C波谱[43]。Ⅱ型显示了相对简单的波谱，因为晶格不对称单元中仅有一个分子。Ⅰ型波谱比较复杂，尤其在80～100 ppm的区域。波谱分析表明了单晶胞中有五个不同的分子。通过以后的X射线衍射证实了这种罕见的现象。

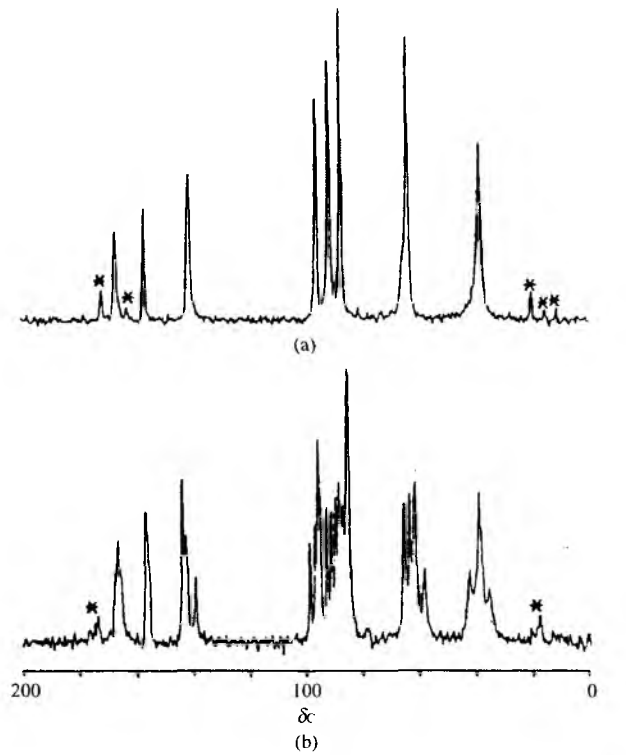


图14 在125MHz记录拉米夫定两种晶型的固相^{13}C CP-MAS谱[43]。(a) Ⅱ型；(b) Ⅰ型。由星号标示出的信号是旋转边带

3.3 固体结构研究

标准1D ^{13}C CP-MAS波谱提供了宝贵的数据以鉴别简单的多晶型体或鉴定样品中的多晶型体的数量，但是固体材料的高度分离的结构数据需要更成熟的方法。先前描述的这些方法包括一些2D方法的CP-MAS变量，能获得跨键及跨空间的连接[44]，但一般需要使用选择的或全部的同位素标记。西咪替丁多晶型式的详细研究是用选择性^{13}C标记完成的。分子模拟研究中使用该研究中获得的距离限制确定了西咪替丁在不同的晶型中的可能构象[45]。

未来的展望——更小、更快、更容易

制药工业中NMR的挑战是以更少样品量提供NMR波谱的大量固有信息内容、速度更快以及花费更少时间解析。目前，这些方面都是研究的重点。进一步改革探头设计以及采用更高的磁场将提高灵敏度。实验设计的进展继续提供药物化合物定性、定量分析的详细信息。NMR数据的快速分析和解析因计算机方法的进展而得以实现[46]。波谱预测以及自动化结构解析的进展大大减小了NMR应用的解析瓶颈难题。这些进展包括那些没有发现的保证NMR在未来的药物研究和开发的各个领域发挥更大的作用。

参考文献

1. Friebolin, H. Basic One-and Two-Dimensional NMR Spectroscopy; VCH Publishers: New York, 1993.
2. Karplus, M. Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance. J. Am. Chem. Soc. 1963, 85, 2870－2871.
3. Neuhaus, D.; Williamson, M. The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis; VCH Publishers: Cambridge, UK, 1989.
4. Bothner-By, A. A.; Stephens, R. L.; Lee, J.-M. Structure Determination of a Tetrasaccharide: Transient Nuclear Overhauser Effects in the Rotating Frame. J. Am. Chem. Soc. 1984, 106, 811－813.
5. Bax, A.; Davis, D. G. J. Magn. Reson. 1985, 63, 760－762.
6. Morris, G. A.; Freeman, R. Enhancement of Nuclear Magnetic Resonance Signals by Polarization Transfer. J. Am. Chem. Soc. 1979, 101, 760－762.
7. Doddrell, D. M.; Pegg, D. T.; Bendall, M. R. Distortionless Enhancement of NMR Signals by Polarization Transfer. J. Magn. Reson 1982, 48, 323－327.
8. Kirk, D. N.; Toms, H. C.; Douglas, C.; White, K. A.; Smith, K. E.; Latif, S.; Hubbard, R. W. P. A Survey of the High Field ^{1}H NMR Spectra of the Steroid Hormones, Their Hydroxylated Derivatives and Related Compounds. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1990, 1567－1594.
9. Piatini, U.; Sørensen, O. W.; Ernst, R. R. Multiple Quantum Filters for Elucidating NMR Coupling Networks. J. Am. Chem. Soc. 1982, 104, 6800－6801.
10. Davis, D. G.; Bax, A. Assignment of Complex ^{1}H NMR Spectra Via Two-Dimensional Homonuclear Hartmann-Hahn Spectroscopy. J. Am. Chem. Soc. 1985, 107, 2821－2822.
11. Bax, A.; Griffey, R. H.; Hawkins, B. L. Sensitivity-Enhanced Correlation of ^{15}N and ^{1}H Chemical Shifts in Natural-Abundance Samples Via Multiple Quantum Coherence. J. Am. Chem. Soc. 1983, 105, 7188－7190.
12. Martin, G. E.; Hadden, C. E. Long-Range $^{1}H－^{15}N$ Heteronuclear Shift Correlation at Natural Abundance. J. Nat. Prod. 2000, 63 (4), 543－585.
13. Bodenhausen, G.; Ruben, D. Nature Abundance Nitrogen15 NMR by Enhanced Heteronuclear Spectroscopy. J. Chem. Phys. Lett. 1980, 69, 185－189.
14. Brüehwiler, D.; Wagner, G. Selective Excitation of ^{1}H Resonances Coupled to ^{13}C. Hetero COSY And RELAY

Experiments with ^{1}H Detection for a Protein. J. Magn. Reson. 1986, 69, 546—551.

15. Reynolds, W. F.; McLean, S.; Tay, L.-L.; Yu, M.; Enriquez, R. G.; Estwick, D. M.; Pascoe, K. O. Comparison of ^{13}C Resolution and Sensitivity of HSQC and HMQC Sequences and Application of HSQC-Based Sequences to the Total ^{1}H and ^{13}C Spectral Assignment of Clionasterol. Magn. Reson. Chem. 1997, 35, 45—462.
16. Summers, M. F.; Marzilli, L. G.; Bax, A. Complete ^{1}H and ^{13}C Assignments of Coenzyme B_{12} Through the Use of New Two-Dimensional NMR Experiments. J. Am. Chem. Soc. 1986, 108, 4285—4294.
17. Martin, G. E.; Hadden, C. E.; Crouch, R. C.; Krishnamurthy, V. V. ACCORD-HMBC: Advantages and Disadvantages of Static Versus Accordion Excitation. Magn. Reson. Chem. 1999, 37, 517—528.
18. Griesinger, C.; Sørensen, O. W.; Ernst, R. R. A Practical Approach to Three-Dimensional NMR Spectroscopy. J. Magn. Reson. 1987, 73, 574—579.
19. Fesik, S. W.; Zuiderweg, E. R. P. Heteronuclear Three-Dimensional NMR Spectroscopy. A Strategy for the Simplification of Homonuclear Two-Dimensional NMR Spectra. J. Magn. Reson. 1988, 78, 588—593.
20. Clore, G. M.; Gronenborn, A. M. NMR Structures of Proteins and Protein Complexes Beyond 20, 000 Mr. Nat. Struct. Biol. 1997, 849—853.
21. Keeler, J.; Clowes, R. T.; Davis, A. L.; Laue, E. D. Pulsed Field Gradients: Theory and Practice. Methods Enzymol. 1994, 239, 145—207.
22. Martin, G. E.; Hadden, C. E. Comparison of 1.7mm Submicro and 3mm Micro Gradient NMR Probes for the Acquisition of $^{1}H-^{13}C$ and $^{1}H-^{15}N$ Heteronuclear Shift Correlation Data. Magn. Reson. Chem. 1999, 37, 721—729.
23. Olson, D. L.; Lacy, M. E.; Sweedler, J. V. High Resolution Microcoil NMR for Analysis of Mass-Limited, Nanoliter Samples. Anal. Chem. 1998, 70, 645—650.
24. Styles, P.; Soffe, N. F.; Scott, C. A. An Improved Cryogenically Cooled Probe for High-Resolution NMR. J. Magn. Reson. 1989, 84, 376—378.
25. Styles, P.; Soffe, N. F.; Scott, C. A.; Gragg, D. A.; Row, F.; White, D. J.; White, P. C. J. A High-Resolution NMR Probe in which the Coil and Preamplifier are Cooled with Liquid Helium. J. Magn. Reson. 1983, 60, 397—404.
26. Logan, T. M.; Murali, N.; Wang, G.; Jolivet, C. Application of a High Resolution Superconducting NMR Probe in Natural Product Structure Determination. Magn. Reson. Chem. 1999, 37, 512—515.
27. Keifer, P. A.; Smallcombe, S. H.; Williams, E. H.; Salomon, K. E.; Mendez, G.; Belletire, J. L.; Moore, C. D. Direct-Injection NMR (DI-NMR): A Flow NMR Technique for the Analysis of Combinatorial Libraries. J. Comb. Chem. 2000, 2, 151—171.
28. Albert, K. On-Line Use of NMR Detection in Separation Chemistry. J. Chromatogr. A 1995, 703, 123—147.
29. Lindon, J. C.; Nicholson, J. K.; Sidelmann, U. G.; Wilson, I. D. Directly Coupled HPLC-NMR and its Application to Drug Metabolism. Drug Metab. Rev. 1997, 29, 705—746.
30. Albert, K.; Schlotterbeck, G.; Braumann, U.; Händel, H.; Spraul, M.; Krack, G. Structure Determination of Vitamin A Acetate Isomers through Coupled HPLC and ^{1}H NMR Spectroscopy. Angew. Chem., Int. Ed. 1995, 34 (9), 1014—1016.
31. Smallcombe, S. H.; Patt, S. L.; Keifer, P. A. WET Solvent Suppression and its Applications to LC-NMR and High-Resolution NMR Spectroscopy. J. Magn. Reson., Ser. A 1995, 117, 295—303.
32. Pullen, F. S.; Swanson, A. G.; Newman, M. J.; Richards, D. S. Online Liquid Chromatography/Nuclear Magnetic Resonance/Mass Spectrometry — A Powerful Spectroscopic Tool for the Analysis of Mixtures of Pharmaceutical Interest. Rapid Commun. Mass Spectrom. 1995, 9, 1003—1006.
33. Holt, R. M.; Newman, M. J.; Pullen, F. S.; Richards, D. S.; Swanson, A. G. High Performance Liquid Chromatography/ NMR Spectrometry/Mass Spectrometry: Further Advances in Hyphenated Technology. J. Mass Spectrom. 1997, 32, 64—70.
34. Chen, A.; Shapiro, M. J. Affinity NMR. Anal. Chem. 1999, 669A—675A.
35. Henrichsen, D.; Ernst, B.; Magnani, J. L.; Wang, W.-T.; Meyer, B.; Peters, T. Bioaffinity NMR Spectroscopy: Identification of an E-Selectin Antagonist in a Substance Mixture by Transfer NOE. Angew. Chem., Int., Ed. 1999, 38, 98—102.
36. Hajduk, P. J.; Gerfin, T.; Boehlen, J.-M.; Häberli, M.; Marek, D.; Fesik, S. W. High-Throughput Nuclear Magnetic Resonance Based Screening. J. Med. Chem. 1999, 42, 2315—2317.
37. Shuker, S. B.; Hajduk, P. J.; Meadows, R. P.; Fesik, S. W. Discovering High-Affinity Ligands for Proteins: SAR by NMR. Science 1996, 274, 1531—1534.
38. Britton, H. G. Physical Characterization of Pharmaceutical Solids; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1995.
39. Keifer, P. A. High-Resolution NMR Techniques for Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Chemistry.

Drug Discovery Today 1997, 11, 468—478.

40. Fitch, W. L.; Detre, G.; Holmes, C. P.; Shoolery, J. N.; Keifer, P. A. High-Resolution ^{1}H NMR In Solid-Phase Organic Synthesis. J. Org. Chem. 1994, 59 (26), 7955—7956.
41. Kuhnert-Brandstatter, M.; Riedmann, M. Thermal Analysis and Infrared Spectroscopy Investigation on Polymorphic Organic Compounds-I. Mikrochim. Acta 1987, 2, 107—120.
42. Haleblian, J.; McCrone, W. Pharmaceutical Applications of Polymorphism. J. Pharm. Sci. 1969, 58 (8), 911—929.
43. Harris, R. K.; Yeung, R. R.; Lamont, R. B.; Lancaster, R. W.; Lynn, S. M.; Staniforth, S. E. 'Polymorphism' in a Novel Anti-Viral Agent: Lamivudine. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, 1997, 2653—2659.
44. Blümich, B.; Spiess, H. W. Two-Dimensional Solid State NMR Spectroscopy: New Possibilities for the Investigation of the Structure and Dynamics of Solid Polymers. Angew. Chem. Int. Ed. 1988, 27 (12), 1655—1672.
45. Middleton, D. A.; Le Duff, C. S.; Peng, X.; Reid, D. G.; Saunders, D. Molecular Conformations of the Polymorphic Forms of Cimetidine from ^{13}C Solid State NMR Distance and Angle Measurements. J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 1161—1170.
46. Williams, A. Recent Advances in NMR Prediction and Automated Structure Elucidation Software. Curr. Opin. Drug Discovery Dev. 2000, 3 (3), 298—305.

（陈 燕 译）

Z

制药领域中的计算机

Onkaram Basavapathruni

Pharmacia Corporation, Peapack, New Jersey, U. S. A.

引言

计算机已成为科学技术各领域的常用工具，其将来的应用也无法限量。随着国际互联网的迅速普及以及计算机制造技术的发展，计算机的价格-性能比持续降低，从而导致了大量计算机应用的发展。制药技术领域也从使用计算机中得益，而且当本领域的专业人员越来越熟悉计算机时会持续受益。本章将讨论计算机应用的一些现有的例子、计算机技术的基础、在制药技术中应用计算机和对其将来的应用进行评价时应该解决的问题。

计算机的应用

目前，在制药技术中，人们已经成功地利用计算机来提高生产力、与其他专业人员合作并对费时的手工任务提供解决方案。为了便于讨论，将计算机应用分为以下几类：

- 资料与信息管理系统；
- 交互式语音系统；
- 小组合作工具；
- 文档管理与发行系统；
- 基于互联网络的应用和工具；
- 用于解决问题；
- 通信辅助；
- 实验室自动化；
- 过程控制；
- 基于计算机的培训。

有一些计算机应用比较复杂，很难将其归入以上几类中的任何一类。然而，任何复杂的计算机应用均可以细分成较小的部分，这样各部分就有可能归入其中一个分类中。

1. 资料与信息管理系统

最初的计算机主要是用来计算。随着硬件价格的下降和计算机存储技术的发展，使用计算机存储大量的各种形式的资料与信息（如文本、数字、音频、图像与视频）的成本很低。随着计算机硬件的发展，软件开发也突飞猛进，相继开发了数据库管理软件包，如 Oracle、Sybase 和微软的 Access。使用这些软件包，自身就可以开发大量基于计算机的系统，以便对数据与信息加以组织，并可以采用各种方法对数据进行查询，也可以购买使用这些流行的数据库程序包的商业软件。在这两种情况下开发的系统所面临的挑战都是决定将什么类型信息保存在数据库中，以及怎样用多种方式进行检索。这些系统如果设计恰当，并有用户主动地参与完善，可以大大减少文书工作，提高有关人员的工作效率。资料与信息管理系统通常由自己的数据处理部门建立，或者由能够满足某个机构用户需要的供应商来提供。通常，同样的数据管理系统在不同的机构中可以有不同的用途。为了让读者大致了解现有的数据管理程序，下面介绍几个系统。

1.1 材料库存系统

材料库存系统用于药品生产的原材料的连续盘存和管理。当新材料到货和材料发货时，系统及时进行更新。该系统有助于追踪现有的库存量、批数、制造某一产品使用的原材料数量等信息。有一些系统还能够预先储备某一批原料，以便供制造特定的一批产品进行稳定性或临床研究之用。图 1 给出了一个材料库存系统的输出例子。

GMP 物品库存报告单

品名	代码	单位	批号	数量
微晶纤维素 NF/BP/DAB (AVICEL PH101/ EMCOCEL)	Z00106	KGS	SP2359	50.00
微晶纤维素 NF/BP/DAB (AVICEL PH102 / EMCOCEL 90M)	Z00102	KGS	L00616	10.57
微晶纤维素 NF/BP/DAB (AVICEL PH103)	Z00103	KGS	SP1029	9.70
MILLER FROCKS 5 SNAPS L CODE 1212	Z02204	CS	SP2059	1.00
MILLER FROCKS 5 SNAPS M CODE 1212	Z02205	CS	SP2060	1.00
MILLER FROCKS 5 SNAPS S CODE 1212	Z02206	CS	L00604	90.00

图 1 材料库存系统输出例子

1.2 处方信息系统

处方信息系统可用于存储制成一批药品的原材料信息，通常包括组分的批号、名称、每个剂型的用量、组分的含量、批量以及每个组分的实际用量等。其他的，如生产概况、运输过程等相关信息也可加以存储。该系统最大的优点是它不同的检索方法。例如，在产品召回、核查或追踪赋形剂的问题上，人们可能会对确定使用特定一批原材料生产的各批产品感兴趣。本系统还可以用来存储处方筛选研究阶段生成的处方信息。因此，用这种方式收集的资料可以用作以后的统计分析。本系统还可以作为一个信息库，所存信息可能会有助于新处方的设计。

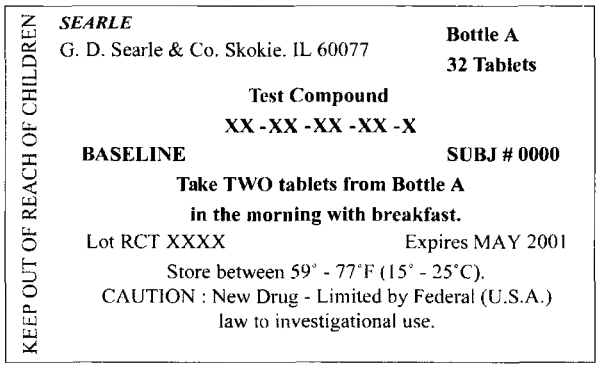
Z

1.3 临床供应库存系统

在药物的研究和开发（R&D）中，为了确定新药与老药的新剂型的潜在疗效，要进行大量临床试验。为了及时地提供必要的临床供应，计划相应的生产，要使用临床供应库存系统。

1.4 临床供应标签系统

医院药房需要经常给进行临床研究的药物提供复杂的标签。按照患者与研究者的人数，要准备提供数百乃至数千的患者与研究者随机分组标签。精心设计的计算机程序可免除手工给每张标签编码的麻烦。计算机还能按照研究者和试验分组情况对标签进行分类，并打印相应的标签。图 2 就显示了一个计算机程序生成的标签。



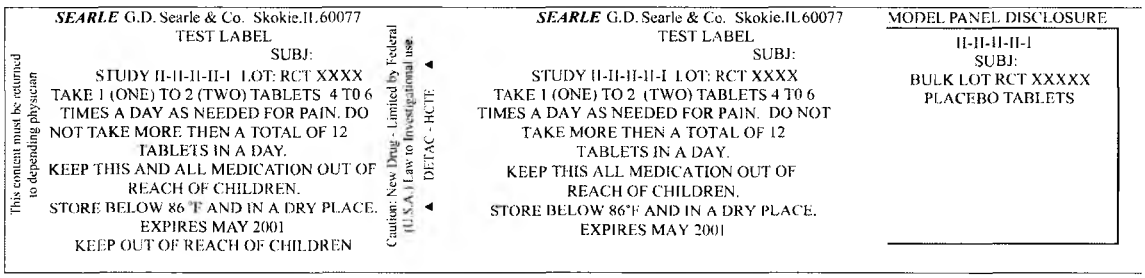


图 2 计算机系统生成的标签例子

1.5 稳定性信息系统

制药企业为了开发各种包装的稳定制剂而进行稳定性研究，在此过程中会产生大量的数据与信息。设计稳定性信息系统的目的是将这些数据加以组织，方便对所需信息进行检索，从而确定一个产品的失效期。这些稳定性数据还要定时呈送给管理机构，如食品和药物管理局（FDA），用来支持研究中的临床研究申请（INDAs）、新药申请（NDAs）、新剂型，简化新药申请（ANDAs）、生物学许可证申请（BLAs）和产品许可证申请。如果需了解更多的信息可参考下列网站：http://www.fda.gov/cber/gdlns/stabdft.pdf

在稳定性研究开始之前，药学研究人员要设计研究方案，如图 3 所示。当研究正式开始时，用计算机生成稳定性研究日程表（图 4）。根据该日程表和研究方案，便会生成在规定的时间里所需进行的化学检测、物理检测和微生物分析的样品清单。所得到的化学分析和物理观察的结果将保存在一个数据库中供将来检索之用。累积的化学数据以表格的形式进行检索，将其置于规范的报告中（图 5）或供复查（图 6）。数据还可以用图形的方式表示（图 7），以便于在短时间内复查大量数据。利用稳定性数据库中的数据可以进行其他统计分析。物理观测数据也会用表格形式显示，以便供写报告和复查之用。

STABILITY PROTOCOL FOR A TABLET DOSAGE FORM PACKAGED IN ALUMINUM FOIL POUCH
STABILITY NO. : 20000

******* EVALUATION PERIOD - WEEKS *******

STORAGE CONDITION	CODE	0	8	13	26	39	52	78	104	156	208	260
+5 °C	C		Ct	Ct	Ct	Ct	Ct	Ct	Ct	Ct	Cn1	Cn1
25°C-60% RH CL	NH	CP		CP	CP	CP	CP	CP	CP	CP	Cn	Cn
30°C-60% RH CL	XH			CP	CP	Cn1	CP	Cn				
40°C-75% RH CL	BH		CP	CP	CP	Cn						

Abbreviations :

P - Physical Tests Ct - Control Sample Cn - Contingency Sample S - Special Instructions

Analytical Tests: E--EXPLORATORY TEST (For Internal Use Only)
C: 3, 10, 11, 17, 22

Compound for Assay: COMPOUND A Impurities or Degradation Products: COMPOUND B

Dissolution : IN GASTRIC FLUID

Physical Tests:

Appearance of tablet and package. Compare to control stored at 5 deg C. Hardness

Instructions:

ICH Study . Stored locally and testing at Contract labs.

Store the following number of samples counted as 1's : c=100 P=10 Ct=10 Cn=300 Cn1=20

Sample Cn (contingency samples).

A1 pouches are packaged in strips of 2×4's for a total of 8 pouches. Each pouch =1's.

(3). ASSAY (10). DISINTEGRATION (11). DISSOLUTION (17). IMPURITIES OR DEGRADATION PRODUCTS (22). MOISTURE

图 3 计算机程序生成的稳定性试验方案

STABILITY CALENDAR FOR THE PROTOCOL 20000

NH – 0	10 – DEC – 1999
C – 8 BH – 8	4 – FEB – 2000
C – 13 NH – 13 XH – 13 BH – 13	10 – MAR – 2000
C – 26 NH – 26 XH – 26 BH – 26	9 – JUN – 2000
C – 39 NH – 39 XH – 39 BH – 39	8 – SEP – 2000
C – 52 NH – 52 XH – 52	8 – DEC – 2000
C – 78 NH – 78 XH – 78	8 – JUN – 2001
C – 104 NH – 104	7 – DEC – 2001
C – 156 NH – 156	6 – DEC – 2002
C – 208 NH – 208	5 – DEC – 2003
C – 260 NH – 260	3 – DEC – 2004

图 4 计算机程序生成的稳定性试验日程表

Z

STABILITY DATA TABLE FOR INCLUSION IN A REPORT

STABILITY OF ABC PRODUCT, 100 MG CAPSULES

STABILITY STUDY NUMBER		20000					
PACKAGE DESCRIPTION		ALUMINUM FOIL POUCH, 30 CAPSULES					
IDENTIFICATION CODE		AXY-142-84					
DATE STORED		21-FEB-95					
ASSAY SUBJECT		COMPOUND A	<= = = = = = = DISSOLUTION = = = = = = = =>				
ASSAY METHOD		HPLC, %	UV				
STORAGE CONDITION	EVALUATION PERIOD (WEEKS)		% DISSOLVED Hours				
			1	2	4	5	8
	0	100.4	6.3	13.7	29.2	36.8	58.0
40℃	4	104.1	5.6	11.7	24.0	30.1	47.3
	13	98.9	6.2	12.9	26.4	33.2	51.7
	26	100.1	--	--	--	--	--
	52	99.0	--	--	--	--	--
	104	101.6	--	--	--	--	--
40℃-75% RH OP	4	105.0	6.0	12.4	25.4	31.8	49.5
	13	99.9	6.2	13.1	27.1	34.0	53.1
30℃-60% RH CL	13	99.7	5.6	13.0	28.7	36.3	57.0
	26	99.7	6.7	14.2	29.3	36.7	56.5
	52	99.6	6.2	13.1	27.3	34.2	53.2
	78	100.0	6.3	13.4	28.0	35.3	55.3
	104	100.0	5.2	11.3	24.4	31.0	49.6
	156	105.2	5.3	11.2	23.9	30.4	49.3

图 5 稳定性试验数据库生成的供附在报告中的表格例子

CUMULATIVE ANALYTICAL DATA

Name of Product: ABC PRODUCT 100 MG TABLETS 7-Apr-2000 10:37 AM

CUMULATIVE ASSAY DATA BY STABILITY NO: 20000

COMPOUND	STAB NO	CODE	DATA			AVG	S.D	UNITS	METHOD NO.	ANALYSIS NUMBER
COMPOUND A	20000	A-4	94.8	95.9	96.6	95.8	0.9	#LBL CLM	TAM 30-992306	99-0862
COMPOUND A	20000	A-8	95.4	97.8	95.3	96.2	1.4	#LBL CLM	TAM 30-992306	99-0862
COMPOUND A	20000	A-13	97.9	96.4	97.2	97.2	0.8	#LBL CLM	TAM 30-992306	99-0864
...			...							...
...			...							...

CUMULATIVE IMPURITY DATA BY STABILITY NO: 20000

COMPOUND	LOT	CODE	DATA			AVG	S.D.	UNITS	METHOD NO.	ANALYSIS NUMBER
COMPOUND B	20000	A-4	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		%	TAM 30-892306	99-0862
COMPOUND B	20000	A-8	0.1	0.1	0.1	0.1		%	TAM 30-892306	99-0863
COMPOUND B	20001	A-13	0.1	0.1	0.1	0.1		%	TAM 30-892306	99-0864
...			...							...
...			...							...

The letter A in CODE field refers to storage condition 55°C

图 6 供综述用的累积分析数据

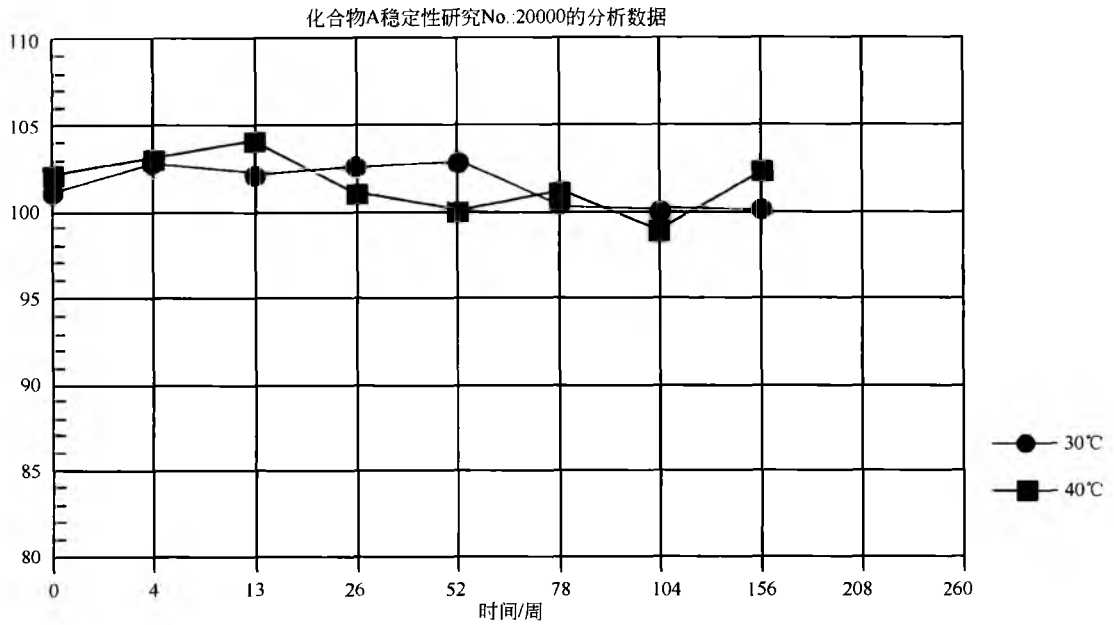


图 7　稳定性试验累积数据的图示

1.6　分析信息系统

分析实验室在建立分析方法、进行产品稳定性研究以及协助处方开发的过程中会产生大量的数据与信息。分析实验室除了要管理样品产生的试验数据外，还要管理样品本身。分析信息系统会提供所要分析的样品清单。清单可以按项目、实验场所等加以分类。该系统还会生成分析报告（图 8）、累积的分析数据以及所要提供的其他种类的报告。

REPORT OF ANALYSIS

PRODUCT DEVELOPMENT ANALYTICAL DEPARTMENT

Page: 1
7-Apr-2000

REPORT OF ANALYSIS

Analysis No: 99-2721 Version 1　　Group: AN

Material: PLACEBO 50mg FILM-COATED TAB　　Proj Code: 5811

Lot No. RCT XXXXX
Sample :BEGIN, END

Requested By: C MAH　　Dept: CLP

Objective: R & D Q.C. RELEASE

Received Date: 17-Dec-1999　　Completion Date: 14-Jan-2000

R & D QUALITY CONTROL　　* G.R. Dill　　18-JAN-2000

APPROVED

*REEVALUATION DATE: 30-APR-2002

Almedica blister strips

APPEARANCE:

Lot	Sample	Result
RCT XXXXX	BEGIN	WHITE ROUND CONVEX TABLET.
RCT XXXXX	END	WHITE ROUND CONVEX TABLET.

IDENTITY:

Lot	Sample	TEST/COMPOUND	RESULT
RCT XXXXX	BEGIN	UV/AA-66106	TABLET STRENGTH AND UV SPECTRUM CONFORM TO AA -66106 50 mg TABLET.
RCT XXXXX	END	UV/AA-66106	TABLET STRENGTH AND UV SPECTRUM CONFORM TO AA -66106 50 mg TABLET.

COMMENT
STRIP COLOR CODE OF BEGINNING AND END SAMPLES: MAGENTA.

Lot. No. RCT XXXXX　　Sample : BEGIN, END

TEST	ANALYST	BOOK	PAGE	SUPERVISOR	METHOD NO.
1	L. K. BROADUS	11511	56	G. MADSEN	N99-044-B1099
16	L. K. BROADUS	11511	56	G. MADSEN	N99-044-B1099

图 8　分析报告例子

Z

1.7 质量保证信息系统

质量保证部门使用多个系统来帮助执行质量保证职能。其中，一个系统用来帮助质量保证部门追踪有关化学原材料、包装组件、中间体原料和成品的信息。该系统中保存的信息通常包括内部的批号、厂商名称、取样日期、放行种类和放行状态。质量保证部门使用其他系统，将物理的、化学的和生物学的检验数据与产品或包装组件的质量标准进行比较，以确定产品是放行还是剔除。生产人员可以在线进入这些系统，以确定生产中使用的原材料的状态或所生产的产品的状态。图 9 为系统输出的一个例子。

QUALITY ASSURANCE IN FORMATION

LOT NUMBER	ITEM NUMBER	MATERIAL	VENDOR INFORMATION	SUBMITTER DEPT.	GROUP	DATE RECEIVED	TYPE OF RELEASE	ANALYSIS NUMBER
SP1890	R00106	MICROCRYSTALLINE CELLULOSE NF/BP/DA	FMC 175	K.DUN MMD	* PDAD *MICRO *RDQC	29-Jan-1998	FULL	98-0268
RELEASED ON 27-Mar-1998 Reev. Date: JAN 2000								
SP1890	R00106	MICROCRYSTALLINE CELLULOSE NF/BP/DA	FMC	K.DUN	* RDQC	29-Jan-1998	FULL	NONE
RELEASED FOR EXPLORATORY USE ONLY ON 29 -Jan-1998 Resv. Date: JAN 2000								
SP6846	R00106	MICROCRYSTALLINE CELLULOSE PH101	FMC 1930	K.DUN MMD	PDAD MICRO RDQC	7-Sep-1999	FULL	99-1848
STATUS : PENDING								
SP3591	R00102	MICROCRYSTALLINE CELLULOSE PH102	FMC CORP 2855	A.SUL PDD	* PDAD *MICRO *RDQC	25-Jan-1999	FULL	99-0189
RELEASED ON 23-Feb-1999 Reev. Date: JAN 2001								
SP3591	R00102	MICROCRYSTALLINE CELLULOSE PH102	FMC CORP	A.SUL	* RDQC	27-Jan-1999	FULL	NONE
RELEASED FOR EXPLORATORY USE ONLY ON 21 -Jan-1999 Resv. Date: JAN 2001								

图 9 质量管理信息系统输出实例

2. 交互式语音（IVR）系统

IVR 系统为特别配置的个人计算机，安装了一个独特的语音软件，在用户和系统之间通过电话形成一个基于声音的界面。这个系统最基本的功能，是能让呼叫者与计算机通过电话交换信息，而中间无须有人介入。IVR 系统在电话银行、航班时刻表、货运追踪等行业广泛使用。近五年里，IVR 系统在临床试验管理方面也得到认可。其现在的应用还包括患者的随机分组、药品供应的库存管理、实时的患者入组状态，以及双盲临床试验的紧急破盲。这个系统能提供定制的多种语言的语音提示，使其在多个国家进行临床试验成为可能。

3. 小组合作的工具

随着国际互联网技术成指数的发展，公司能够架设自己的内部互联网络，以便有效地共享信息，方便参加项目的合作各方召开相互可视的网上会议。这些工具有助于编档保存项目文件，为在多个项目之间方便地进行信息搜索提供方便。目前，这些工具的应用还包括在地理位置上分开的药物研发部门和制造厂在生产技术资料和信息上的合作。

4. 文档管理和发行系统

15 年来，一个典型的新药申请资料从数千页增加到数十万页。为了应付这种增长及加速资料的提交过程，人们开发了大量的软件工具。这些工具在一个协同合作的环境中提供对文档的控制和使用，有助于人们准备电子的和纸质的提交材料。

5. 基于国际互联网的软件和工具

由于在互联网上搜索信息很容易，所以人们开发了以网页形式进行数据收集、分析、浏览和报告的软件，使人们在利用软件收集患者注册信息和某些临床试验数据方面变得越来越方便。另外，还开发了大量的检索工具，来查询互联网上的数亿条信息，如 Alta Vista、Excite、HotBot 等就是这样的工具。若要了解更多有关这些工具的信息，可查阅 www. altavista. com、www. excite. com、www. hotbox. com。

6. 项目管理系统

新药的成功开发，需要对各项研究和资源进行细致规划，并对项目的进程进行跟踪。虽然小项目用人工进行监控也不难，但是项目一多，使用自动工具进行进展规划和各项研究的监管就受益匪浅了。另外，这些系统还有助于在新项目中为能用来应付困难形势而提出预案，也有助于项目。目前，上市的多个项目管理系统均能实现这样的功能。从个人计算机到大型计算机均有相应的系统。

7. 计算软件解决问题方面的应用

计算机是对数据进行统计分析和解答数学问题的优秀工具。表 1 为普遍使用的商用统计分析软件。科学家经常和统计学家一起设计实验，以确定对收集到的数据进行分析的最合适的统计方法。人们通常使用按用户要求设计的软件或能够进行定制的商业软件来解决数学问题。

表 1 商用统计分析软件包

名称	来源
Statistical Analysis System (SAS)	SAS Institute Inc. SAS Campus Drive Cary, NC 27513－2414 Web address: http://www.sas.com/
MINITAB	Minitab Inc. 3081 Enterprise Drive State College PA 16801－3008 Web address: http://www.minitab.com/
WINNONLIN	Pharsight Corporation 800 W. El Camino Real, Suite 200 Mountain View, CA 94040 Web address: http://www.pharsight.com/

8. 电子数据表软件

几乎所有的计算机均有相应的商业电子数据表软件，该软件是解决数学问题的一个有用工具。数据按表格形式输入，在表格中定义数学公式，按一个按钮就能得到答案。用户可以方便地变更公式，增加数据的列和行并很快就能得到结果。同样，这些软件能够让用户为手上的问题确定假设方案。药剂师在计算制剂成分的含量、计算制备不同剂量制剂所需的每个组分的数量时，该软件特别有用。除了计算功能之外，该软件还能将资料与信息用表格和绘图的形式表示。

9. 有效期预测

按照 GMP 的要求应在产品标签上注明有效期，有效期是将样品放置于稳定性试验方案规定的储藏条件下，对样品数据进行分析所得到的。有效期的确定，从原来的目测定方格纸上的时间-温度曲线，画一条近似的回归线，发展到运用严格的物理化学定律和复杂的计算机统计分析[1]。利用计算机的高速和准确，以及统计学家的专家意见，药物学家可以用不同的统计模型对数据进行拟合，并确定最佳的有效期。

10. 药物动力学

多年来，计算机已经成功地使用在药物动力学领域[2]：①将血药浓度进行合适模型的拟合（一室、二室或多室），计算模型参数，如吸收速率常数、消除速率度常数、半衰期以及分布容积[3]；②评价生物利用度参数，如峰浓度、达峰时间和药时曲线下的面积[4]；③计算肾衰竭住院患者的给药方案[3]。

目前的发展趋势是利用基于生理的药动学模型，研究药物在动物体内的行为，将数据外推至人[4,5]。在这方面，计算机特别有利于确定预测模型，将动物数据按比例增加到人，并预测药物在人体液中的浓度。

微型计算机还用于系统化、加速处方设计、简化制造过程，通过模拟的模型和血浆水平预测减少所需的生物利用度试验量。商业软件包，如 WINNONLIN、SAS（表 1）和按用户要求定制的程序，能解决在药动学研究和应用中的复杂的数学公式。

11. 通信辅助

计算机已经成为优秀的通信工具。它可以将一个用户输入的信息存储起来，向另一个用户发送信号，对方就能阅读此信息。当多个计算机联成一个网络时，计算机用户可以同时向其他多个用户发送信息。这个特性使计算机成为不同机构之间强有力的远程通信手段。下面介绍几个通信辅助的例子。

11.1 电子邮件

随着国际互联网的迅速扩大，电子邮件（E-mail）已经成为浏览器不可分割的部分，如美国 Netscape 公司的 Navigator 和微软公司的 Internet Explorer。有时，电子邮件软件还和其他的办公室自动化程序捆绑在一起，如文字处理软件。这些电子邮件软件允许用户将信息发送给互联网上任何地方有电子邮件账号的用户。除了发送邮件之外，这些软件还允许用户保存、转发、回复、删除和打印其他用户发来的信息。大部分电子邮件程序包允许发送包含文字、图片、视频和语音信息的附件。电子邮件能够提供和远程用户几乎即时的通信，有助于提高跨国公司的生产率，增加其与管理机构的联系。

11.2 信息分发管理系统

有着不同地理位置分布的制药公司常常要在不同的地区之间进行联系，以分享资料与信息。公司采用数据分发处理的概念，在每个分部设立一个数据处理中心，用网络将这些中心连接起来。采用这种方案，公司能很容易地在不同的地方运用常规数据管理系统同时进行同一个项目，并将信息进行双向传输。例如，公司进行毒理学或稳定性研究，可以将信息合并一处，供生成规范的报告或其他的用途之用。另外，这些系统还有助于将一地开发的技术传到另一地，还允许访问其他地方得到的数据。

12. 实验室自动化

现在市场上的许多实验室仪器都有嵌入式的微处理器，这些微处理器能将从样本收集到的数据进行处理，显示或将结果传送给计算机。另外，这些仪器也许有一个安装在外部计算机上的接口，以供计算机处理由仪器产生的数据。就常做的实验或分析而言，常需要将仪器与计算机连接，以供随后的数据分析。以下是一些常见的系统。

12.1 色谱系统

在自动化色谱技术，尤其是高效液相色谱领域，计算机已经成为一个重要的工具。在实施自动化以前，用纸带记录仪记录从 HPLC 检测器输出的模拟信号，并用手工进行计算。在自动化系统中，HPLC 检测器的输出信号，经

模-数（A/D）转换成数字信号储存于计算机中，令计算机对所存数据进行分析，便可计算出结果。使用自动化系统可以克服纸带记录仪所固有的缺点，因为计算机使分析化学家能按需要改变计算参数（例如，基线、峰开始和峰结束）。这样一来重复进行的分析数量就减少了。计算机作为系统控制器，在进行柱切换和溶剂梯度方面尤其有用。

12.2 自动溶出系统

在固体制剂溶出度测定中应用计算机几乎可以实现完全的自动化。分析员只需对分析进行设置，计算机即可通过控制系统内各装置，如取样泵和常用于分析的分光光度计来执行所有其他的操作。通常，将一小部分样品溶液泵入分光光度计的流通池，再测量吸光率。计算机将根据吸光率读数进行计算，并以表格或图示的形式给出报告。取样、分析、定量、数据处理和报告均由计算机按照分析前设定的参数或按在设定表中指定的参数[6]执行。在开发模拟胃肠道 pH 变化或存在胆酸盐[7]的药物溶出系统时，自动化起着重要的作用。

12.3 具有微处理器的天平

在制药行业中使用具有微处理器的天平自动进行大量的常规操作。有一些机构使用这些天平自动进行美国药典要求的质量差异试验。试验时，与天平相连的打印机将每个制剂的质量、平均质量以及标准偏差打印出来[8]。在毒理学和病理学实验室，还用此类天平称量动物或器官，并将信息传输到中央计算机以供进一步处理之用。

13. 过程控制

计算机化的过程控制系统使用传感器在预先确定的时间间隔内测量过程变量，以做出适当的判断，并采取适当的措施以确保对过程的控制。在一个开环的过程控制操作中，计算机记录传感器读数，与标准值进行比较，并通知操作人员进行必要的调节。在更为复杂的闭环过程控制操作中，计算机记录测量值，与标准值进行比较，并将信号传给调节装置进行必要的调节[9]。过程控制的自动化常常受到制药设备的限制。迄今为止，已有大量的公司成功实施了过程控制。自动压片机和自动冻干机是其中两个例子。

13.1 自动压片机

装有测量仪表的压片机具有计算机接口，使药剂研究者能通过计算机来研究压片的机理以及片剂的可压性及其与处方设计间的关系。另外，自动化系统还有助于研究压片曲线，以供将来参考之用，还有助于在开发和生产时控制片重，并监视冲模的磨损。自动化能减轻质量控制人员的压力[10]。在英国，Merck Sharp 和 Dohme 的大规模生产设备已经完全计算机化，能大批量生产多种片剂产品[11]。

13.2 自动冻干机

在溶液状态中不稳定的药物或生物制品可以通过冷冻干燥技术将其转变成稳定的固态，患者使用前再重新溶解即可。冷冻干燥器设备制造商正在对设备进行自动控制升级。通常，自动控制系统有一台个人计算机和一个可编程序逻辑控制器。个人计算机用来启动、监视生产过程、保护制法和保存数据。可编程序逻辑控制器从个人计算机下载指令，控制冻干、灭菌和清洁过程。

计算机可以容易地监控产品温度，以避免较长的冷冻时间，并且不需要操作员的介入可将冷冻干燥从一个阶段切换至另一个阶段。计算机还有助于形成工艺文件，有助于研究低成本的冻干曲线，这应该对将产品从中试放大至大生产很有用。

14. 计算机应用的法规影响

如前所述，在制药行业中对计算机和计算机系统的使用正在迅速增加。所使用的系统从用于简单操作，如文字处理、电子邮件、能登录互联网的个人计算机到用于过程控制的高性能计算机。另外，为了不用或少用纸张，制药行业中将大量的电子批记录系统应用于药物和产品生产，用来记录工艺文件。

作为管理当局，美国 FDA 要求对计算机化系统进行验证，要求厂商遵守有关电子记录和签名的法规（参见 http://www.fda.gov/oralcompliance_ref/part）。美国 FDA 验证指南的总则[12]对验证的定义是：验证是形成一个证明文件，该文件能充分保证某一生产工艺能持续地生产出满足其质量标准要求的产品。这个定义适用于计算机系统和工艺过程。现在，工业界在计算机化系统验证方面做得很好，并开始强调电子记录和签名法规的重要性。如果需要了解更多有关计算机验证电子记录和签名的信息，请访问 http://www.pharmaportal.com/articles/pt.fda99.cfm。

15. 将来的发展趋势

对于用计算机可读的语言来描述的问题，计算机能够提供解决方案。尽管计算机比人的效率高，但它还缺乏人类的直觉、洞察力和经验。人们在开发计算机语言和软件工具方面付出了极大的努力，大大方便了人们编写程序和获得所要的答案。尽管如此，研究者仍需要通过程序员将其要求翻译给计算机；目前，研究者离开程序员独立行事还不太现实。科学家面临的挑战是如何让非专家用计算机完成复杂的任务。在这一点上，互联网技术在提供易用的标准浏览技术获取和交互个人计算机的信息方面发挥了重要作用。任何能干的互联网用户现在都可以在线购买机票、购买电子产品、检索有关疾病的信息和产品规格等。这些趋势在可预见的将来还会延续。

人类基因组是正得益于应用计算机的另一个领域。在这一特定领域，研究人员刚开始取得令人惊奇的发现。随着更多关于人类基因组信息的发现，我们将通过基因水平了解人类疾病，使研究者有机会发现致命疾病的治疗方法。

参 考 文 献

1. Vadas, E. B. Stability of Pharmaceutical Products. Remington: The Science and Practice of Pharmacy; Mack Publishing Company: Eaton, PA; 1995; 639—647.
2. Danek, A. Int. J. Clin. Pharmacol. 1978, 16, 345—350.
3. King, F. G.; Dedrick, R. L.; Farris, F. F. J. Pharmacokinet. Bonham 1986, 14, 131—155.
4. Tsuji, A.; Nishide, K.; Minami, H.; Nakashima, E.; Terakasi, T.; Yamana, T. Drug Metab. Dispos. 1985, 13, 729—739.
5. Aiache, J. S.; Turlier, M.; Tanguy, A. Eur J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1984, 9, 89—102.
6. Pagone, F. M. Pittsburgh Conference and 2 Exposition Abstracts, Atlantic City, NJ, 1986; No. 158.
7. Wickman, A.; Pagone F. M. Pittsburgh Conference and 2 Exposition Abstracts, Atlantic City, NJ, 1986; No. 280.
8. Paruta, A. N.; Breon, T. L.; Greene, D. S. Computerized Weight-Variation Testing for Uncoated Tablets and Capsules. Automation of Pharmaceutical Operations; Fraad, D. J., Ed.; Pharmaceutical Technology Publications: Springfield, OR, 1983; 59—64.
9. Sanders, D. H. Computers Today; McGraw-Hill: New York, 1983; 595—596.
10. Schwartz, J. B. The Instrumented Tablet Press: Uses in Research and Production. Automation of Pharmaceutical Operations, Fraad, D. J., Ed.; Pharmaceutical Technology Publications: Springfield, OR, 1983; 229—239.
11. Corbin, R. L. A Computerized Manufacturing Facility. Automation of Pharmaceutical Operations; Fraade, D. J., Ed.; Pharmaceutical Technology Publications: Springfield, OR, 1983; 241—243.
12. U. S. Department of Health and Human Services Guide to Inspection of Computerized Systems in Drug Processing; 1983.
13. Fraade, D. J. Automation of Pharmaceutical Operations; Pharmaceutical Technology Publications: Springfield, OR, 1983.
14. Fraade, D. J. The Aster Guide to Computer Applications in the Pharmaceutical Industry; Aster Publishing Corporation: 1984.
15. Harris, J. R. The Aster Introduction to Microcomputers in Pharmaceutical Operations: Aster Publishing Corporation: 1984.
16. deSpautz, J. F. Automation and Validation of Information in Pharmaceutical Processing; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998.
17. Rowland, M.; Tozer, T. N. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, 3rd Ed.; Williams & Wilkins: Baltimore, 1995.

（王 浩 张晓红 译）

Z 制药设备的电力系统

Joseph Maida

Maida Engineering, Inc., Fort Washington, Pennsylvania, U. S. A.

引言

制药设备的电力系统必须安全可靠、运行良好、可预测、清洁灵活，有时需要进行验证。电力系统的电压为120～69 000V。美国和加拿大的药厂可以从电力公司购买60Hz三相电力，这比他们自己发的电可靠。其他国家的电力为三相50Hz，可能没有药厂自己发的电那么可靠。

本章旨在让读者基本了解多种动力分配系统结构，并使读者熟悉美国药厂里普遍安装的配电装备。这有助于评估新的和现存的制药设备的配电系统。

电力来源

药厂可以从能源供给商购买电力，也可以自己发电。买电通常比自己发电便宜，大药厂在买电时有多种选择。对这些选择的透彻理解将大大降低用电的费用，并增加电力系统的可靠性。所有的药厂，尤其是小、中型药厂，在决定如何购买电力和安装可靠的电力系统时，必须准确地确定他们目前和将来的常规电力负载以及正常、紧急状况时的电力负载。

药厂的电力负载可以分为以下四种：

(1) 正常负载——可以关闭一段时间而不会产生危险和对生产或研究造成很大的损失。

(2) 备用负载——断电后将产生危险或给生产和研究带来很大的损失，但是它可以维持60s的电力供应。

(3) 备用连续负载——断电后能维持电力供应。

(4) 应急负载——政府部门规定和当地采用的建筑标准规定的应急和逃生照明用电和其他负载。

根据用电电压、种类、类型和药厂中的场所，负荷还可以进一步细分。药厂中典型的用电电压为480/277V和208/120V。种类包括线性和非线性负载。线性负载主要包括白炽灯和感应电动机这些不是由变频机控制（VFD）的用电器材。非线性负载包括所有具有开关电源或可控硅整流器的负载，如VFD、不间断电源和电子镇流器等480/227V系统，以及电脑、复印机、传真机、电子设备和仪器等208/120V系统。电源类型包括连续负载，如整天亮着的电灯，和每次供电不能超过3h的非持续供电[1]。药厂的区域应该根据各个区域的功能或操作过程以及该区域是否遵守药品生产管理规范（cGMP）来划分。

负载规划要基于至少7年的考虑。将每组的连接负荷乘以反映此组用电负荷占所有用电负荷的比例的差异因子，就可以得到每组的用电负荷的需求。每组用电负荷的总和等于工厂的最大用电需求。确定最大用电需求之后，工厂可以向当地电力公司咨询以确定工厂输电的最佳电压和配置。

连接电力公司的电缆至药厂进线口设备的输电导线传输的额定电流必须至少是连续载荷最大需求的125%加上非连续载荷最大计算值的100%。推荐使用具有更高额定级别预备、能提高额定级别的用户引入电线和输电设备。

配备高于200hp制冷设备的中央使用区（CUP）的大工厂应该考虑购买及在某些情况下配置如4160V和13 800V的高压供电。

应急发电机应该可以发出比工厂备用用电计算总量和紧急用电两者总和高25%甚至100%的电力。另外，作为初期装机的一部分，工厂也应该安装以备将来用电的应急发电机，和有司法权的地方当局讨论发电机引擎使用的燃料类型。国家电气规程，NFPA 70（NEC），规定如果发电机用于应急负载应该备有燃料。尽管如此，当存在可靠的天然气服务时可以例外。

电力系统服务

高压供电主要装配于中到大型制药厂，且作为单源供电、双源供电以及常规储备供电（图1）。电力公司将为药厂安装两条独立的线路，用于双源供电和用于常规储备供电。每个双源供电线路将常规负荷工厂的一半用量，但每个电路都有负荷整个工厂用电的能力[2]。常规储备电路与总线连接，只用一条电路就可以供应整个工厂所有的常规用电[2]。

低压供电服务适用于小型到中型的制药厂。使用电压可以为277/480V或120/208V。低压装置的安装与维护均较高压装置便宜。然而低压装置每千瓦时电量的费用较高。

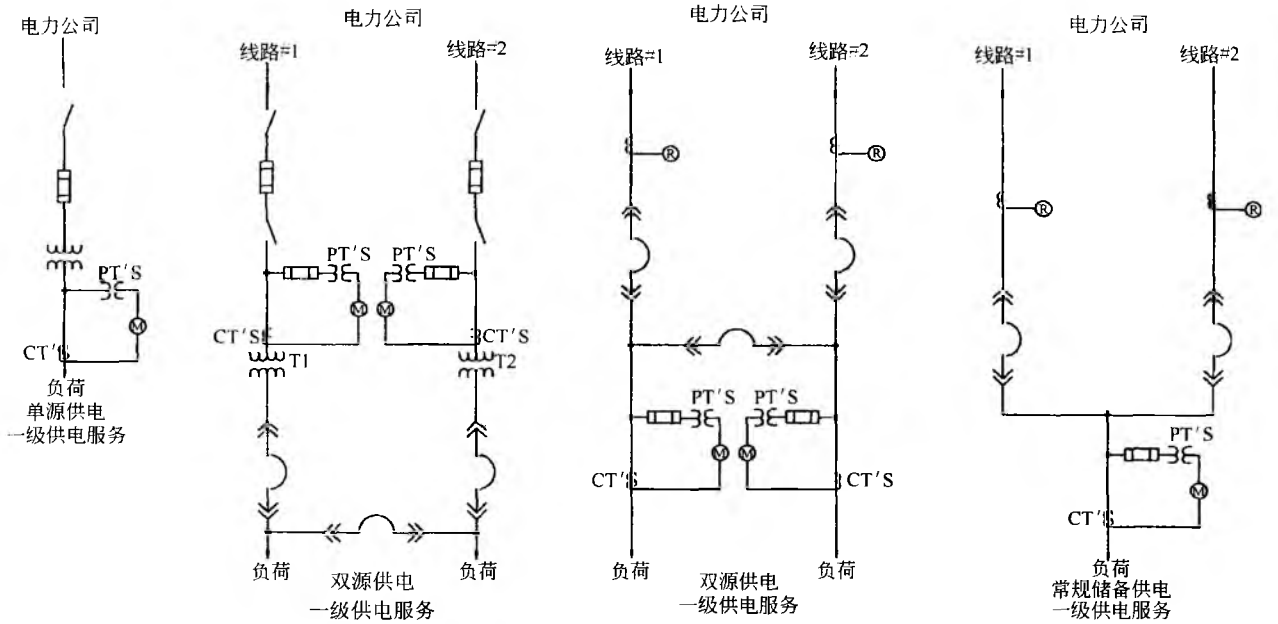


图 1 典型的一级供电服务系统的安装

低压供电

以下的项目应该在设计一个低于 1000V 的二级电力系统时予以考虑：

(1) 电力公司将提供并应给药厂供应低压电的变压器。此变压器应专用于该制药厂而且应该用 Y 形接地结构。与其他客户共用一个变压器可能会降低电力供应的质量和可靠性。

(2) 电力公司变压器的大小将会影响进线设备的额定值和大型发动机的启动。如果变压器的额定值较低，大型机器必须降压启动。如果变压器的额定值较高，进线设备就要有较高的对称短路 (IAC) 等级。电力公司会在他们的变压器的输出端提供最高的对称短路电流。

(3) 进线口设备的额定电流必须等于或大于目前和将来用户引入线的载流量。而且，此设备的 IAC 短路电流额定值必须高于电力公司变压器的短路电流。应该安装备用的进线口导管以备将来安装用户进线用。进线口装备应该为将来的断路器预留空间以提供负载。所有的输入电线必须是 3 相 4 条线并且埋于地下金属导管中。

(4) 如果可能的话，进线口设备应该安装在室内配电机房里。设备应该包含 1～6 套输电线断路器，或负载断路开关和工厂负载馈线电路断路器。用于 480/277V 系统、额定电流为 1000A 或更高的断路器和断路开关必须包括接地故障保护装置。馈线电路断路器通常是模制箱。电源和模制盒式断路开关均配有很高短路 IAC 额定值的集成熔断断路器。集成熔断断路器的限流器和保险丝都应该装在配电机房里。

(5) 不应该用保险丝来保护低压反馈。高于 100A 的保险丝的时间电流特征将与接地保护系统的启动电流和总线过流保护系统（断路和熔断电路开关）接地保护的时间延迟不协调。主要的用电断电开关可以配备用以限制电流的保险丝，以降低使用时来自电网的短路电流，同时也应该有一个三相电压继电器用于单相保护。

(6) 在不产生恼人的跳闸的前提下，包括断路器或继电器，应该设置得尽量低一些。接地保护系统的启动电流和主要过流保护系统的时间延迟必须与最大的没有接地保护系统的供电电路断电器的跳闸特性相协调，并要小于 NEC 规定的最大电流。

(7) 如果动力分配系统中使用保险丝，三相马达启动器应该具有包括单相保护的固态防过载装置。

(8) 电力公司的变压器的次极连接着 2～6 条分开的进线，这些电线可以和连在一起的分开的主断路器或主要的熔断开关相连。所有进线的载流量必须等于或超过目前和将来的工厂最大用电电流。这种做法能降低进线口设备的安装费用，但是不能像主断电器或主熔断开关那样提供额外的保护，因此可靠性较差。

(9) 检修程序应该记录所有的测试、检查及由主线和馈线断路器清除的故障。缺少此程序会降低电力设施的可靠性[3]。模制盒式断电器不需要内部检修。在清除完一次错误之后，应该对它们进行盒子破损和连接松开的检查，清除完两次错误后，它们应该更换掉。馈线电路断路器，尤其是老式的断路器，应该适时进行重复的开和关[4]。部分电力系统的初始任务包括接地故障保护的测试[1]。

(10) 所有临界负荷都推荐安装二级选择电路（图 2）。它要求安装双头开关或其中的一个变体。双头开关包括两

个用于不同总线的主断路器，中间有一个连杆断路器。每条总线都有各自的馈线或支路断电器。负荷应由每条总线平均分配。

(11) 重要用电可以和附加的馈线电路断电器相连，双头开关的两侧一边一个，将断路器的负载端用馈电电线相连。还可以使附加的馈线电路断电器与自动延时转换开关相连。

高压供电

规划配电系统的一级结构时，应该注意下列事项：

(1) 一个一级设备可以有 1～6 个进线断路器或熔断开关。这些过流装置可以保护一级电源，一级电源将电流分配到工厂配电房里的二级电流分配装置、CUP 中的一级电压引擎启动装置，当发电系统与输电线一起使用提供短暂或连续电源的话，一级电源还可以将电流分配到发电机开关上。

(2) 双源供电有两套主要的进线断路器和一套输电连杆断路器，也可能有一套额外的一级电源断路器。常规储备装置有两套主要的输电断路器，可能有一套额外的一级电源断路器（图 1）。在很大的药厂中，一级电路断路器都和户外的分变压器相连，分变压器将为 CUP 和电流分配亚单位分别提供 4160V 和 13 800V 的电压。

(3) 每个成套变电所包括一个原边熔融断器断路开关或断路开关和一个干变压器，且副线圈开关应该处于负荷的中间位置。单元变电所变压器应该至少可以承载起目前和将来 125%的最大用电负荷。

(4) 双头成套变电所为达到 480/277V 或 120/208V 的二级选择性电路分布和安装一级选择性电路分布提供了经济、安全、工程前的和可在工厂测试的结构。双头成套变电所每侧都有一或两个主要的一级断路器或熔融开关，它们与连在电源断路器上的变压器相连。每个馈线电路断路器都有一个主要的二次回路断路器用以保护内部总线，总线与电源断路器相连，又通过一个二级连杆断路器和另一个馈线电路断路器相连。每个变压器应该至少可以承载整个双头成套变电所 125%的最大工作负荷电流。

(5) 一级选择电路分布给每个变压器用两个一级可选馈线。这些馈线或与两个相连的具有公共的负载侧保险丝的原边非熔融断路开关线相连，或与电线一侧的两个相连的原边熔断开关连在一起。后者见图 2。一次只能关闭一个原边熔断开关。

(6) 干型变压器通常安装在室内，其类型有通气型、封闭型、充气型、完全封闭不通气型和铸件线圈型。铸件线圈开型最贵，过载能力也最大。变压器的规格应当根据空气与空气之比来制定。应该配备自动风扇储备以提供更高强风比，应提供由于变压器内温度升高电扇启动的报警。

(7) 2500kV·A 液体填充的油变压器可以采用底座安装置于户外，其中的液体为矿物油或不易燃烧的硅液体。户外液体填充型的变压器有时候比干型变压器具有优势，因为干型变压器的基本脉冲水平（绝缘水平）较低，它们在避雷保护时就相对比较困难[5]。功率在 2500kV·A 以上的配电变压器用于更高的二级电压，该二级电压包括用于大型马达的 4160V 和中压供电的 13 800V。

(8) 这里所描述的所有的配置都是以放射型供电为基础的。放射型供电给药厂中配电板以及其他配电设备供电。与供电相连的支路给用电负荷提供电。

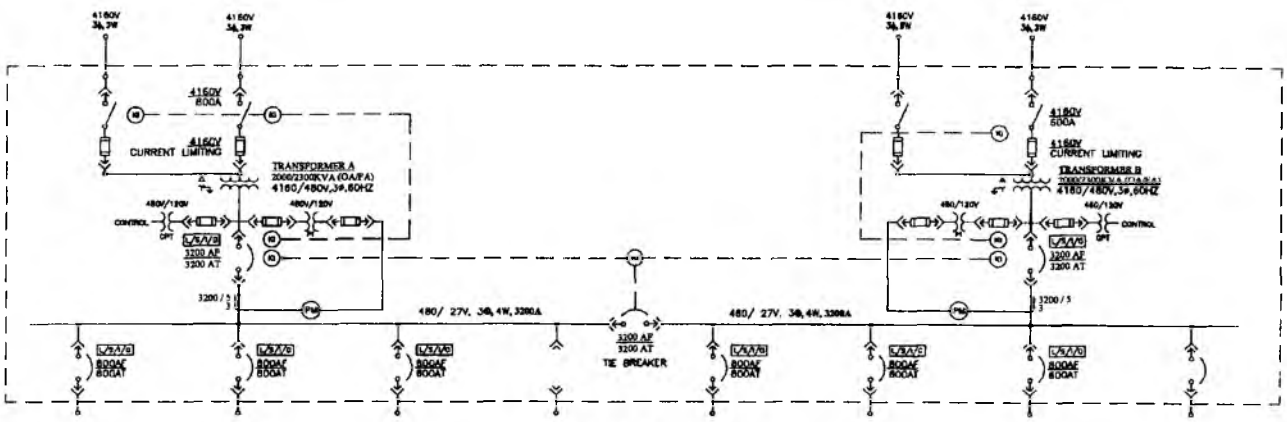


图 2 二级选择性电路装置

供电和分支电路的规划

供电从开关、配电板和马达控制中心出发给药厂中的配电装置供电。分支电路从配电板和引擎控制中心出发，给制药设备、照明、马达和其他装备供电。

(1) 三相三线电或三相四线电和照明配电板的电流为 100～1600A，它们带有一个主断路器或者只有把手。它们带有其用电器的馈线回路断路器和（或）药用仪器、照明装置等的分支断路器。配电板的短路电流应该比配电板变

压器计算的短路电流大。四线开关、配电板和引擎控制中心应该有一根单独的中性总线和一根单独的接地总线。分接的四线二级中性线应该在主要的二级断路器前面的某个地方接地，理想的情况是接在变压器而不是配电板里。应该根据 NEC 的规定和可靠性要求给配电板安排时间表和名单卡并保持其安全性。

(2) 当中性线安在自动转换开关 (ATS) 的供电线上时，系统应该和带有四极自动转换开关的电流分配系统相连。系统通常起始于包括单相和三相 δ-Y 形变压器的双绕组变压器的副线圈和 Y 形发电机的输出端中。这样可以避免地线电流循环而触发接触故障变压器，以及影响敏感的用电器。

(3) 药厂中需要安装二级变电所 (120/208V) 和变压器以给制药设备提供 120V 和 208V 的分支电路。由于电压较低，支路的长度应较短。

(4) 等于或超过 1hp (1hp=745.700W，下同) 的交流电动机应该为三相460V[6]。小马达可以是单相 120V。如果工厂买的是 208/120V 的三相电或 240V 的三相电，那么等于或超过 1hp 的所有交流电动机都应该为 200V 或 230V 三相马达。

(5) 马达控制中心 (MCCs) 通常为 480V 三相三线或 277/480V 三相四线电，电流为 600～2500A。马达控制中心的设计应该是工业用而不是商业用，而且它的短路电流必须比引擎控制中心变压器的短路电流的计算值要大。新的马达控制中心都包括智能启动器、保护装置和网络通信，将来的药品生产也应该考虑 24V 的控制电路。

(6) 当马达控制器用于大型马达时，它们有时候会连在主开关上，但是通常连在马达分支电路上，马达分支电路位于电流分配配电板上或马达控制中心里。马达控制器可以是全电压非可逆型、全电压可逆型、减压型和固态型。减压型和固态型马达控制器在负荷需要软启动或在不造成严重电压下降的情况下没有足够的短路电流来启动马达时使用。当按照 cGMP 的规定对关键制药设备进行控制时，应该对马达控制器和它所有的控制线路的操作进行认证和验证。

(7) 变频机是特殊类型的马达控制器。它们总是和 480V 的马达一起使用，有时候也与大于 200hp 的马达一起使用，因为与降压型启动器相比，输出同样的力矩它们需要较少的供电线电流。它们比较复杂，在一个干净、凉爽、通风的环境中才能维持正常运作。变频机改变马达的转速，如果低速持续运转需要额外制冷。由 VFD 控制的马达应该专门设置。变频机在它的输入端和输出端马达馈电支路上产生简谐波。电容器不能安装在 VFD 的负载端。安装在 MCC 或开关的 VFD 输入端上的电容器必须有一个在 VFD 产生的任何简谐电流频率下均不引起共振电流的无效千伏安。变频机需要设定许多参数，大多数都采用工厂的默认设置并加以记录。在对符合 cGMP 要求的厂区和工艺里的关键药用仪器进行控制时，VFD 的操作、各种参数的设定和它所有的控制电路都应该进行认证和验证。

(8) 通常设备生产商需为各类型的药用设备提供定做的控制箱。这些控制箱应该根据 UL 的规定进行标注，否则其所有的电线和设备都应该符合 NEC 的要求。控制箱的功能、控制箱里的设备和它所有的控制电路都应该进行认证和验证。

(9) 所有的备用不间断负荷都必须安装连续供电电源 (UPS)。用于单独制药设备的小型 UPS 比大型 UPS 好。由于药厂电力分配系统非线性负荷的量，UPS 是唯一不产生简谐波的干净电源，其他的非线性负荷产生简谐波。连续供电电源有参数设定和警报。在对符合 cGMP 要求的厂区和工艺的关键制药仪器进行供电时，UPS 的操作、各种参数的设定和警报都应包括在设备的认证和验证中。

(10) 自动转换开关 (ATS) 通常将应急负荷和备用负荷从正常电源切换到应急电源。有各种电压的自动转换开关，有三极或四极的，有在优先限电电路中会发生时间延迟的，有接触启动应急发电机的，有控制正常电源和应急电源之间无碰撞切换的，以及为应急发电机启动电池供电的整体电池。它们可以是简单或复杂的，是安全电力分配系统的关键组成部分。自动转换开关是导致正常/应急电路发生故障的一个潜在隐患，因此必须经常进行检查和测试。

发电机和应急电源

药厂可以从发电机、可充电电池，有时也可以从另外的电力公司得到应急或备用电力。不间断电源、中央储电系统和单元设备都用可充电电池作为应急电源。

(1) 应急灯和出口标志采用单元设备 (配有集成或遥控灯的自感系统的电池组) 初始花费较少，但维护费用很大。

(2) 应急发电机可以为应急灯和出口标志以及备用负荷提供应急电力。1996 版 NEC 新增了一项要求，即所有合法的应急负荷必须由带有专用电源和分支电路的专用 ATS 提供。1996 年后必须安装两个或多个为应急或备用负荷供电的 ATS。应急发电机通常有备用定额，有时候有较低的初始定额。除非要一次运转好几周，发电机都使用备用定额。备用发电机可以在短时间内为线性电负荷产生 100%千瓦级的电量。非线性负荷会降低应急发电机的配额。可以购买带有底座双层燃料箱的户外应急发电机，它可以安装在人能进入的外壳里面，功率可达 1600kW。当整个药厂或药厂中的一大部分需要应急电源时，建议安装两个或多个发电机。这些发电机应该有优先限电线路，能在关键和合理负荷需要用电之前关掉不重要的用电负荷。应急发电机可以互相协同工作，也可在电力公司的许可和按照电力公司的要求进行设计的情况下和电力公司的供电线协同工作。

简谐波

非线性负载会产生周期性的扭曲波。任何一个周期性波形都可以分解成或当成基形波和一系列简谐波来分析。

分支电路和非线性设备的电源里有60Hz的基形波和简谐电流。电流的最大振幅出现在第3、5、7、9、11和13个简谐波上。

(1) 三态简谐波，包括第3、9、15个简谐波，只存在于有中性导体的电路里，比如计算机和照明电路。位于Δ-Y形变压器次级结构端的三态简谐波不会传播到变压器的初级端。4～50的K级变压器是专门为解决这些简谐电流而设计的。

(2) 和三态简谐波不同，变频机会产生简谐波，最大振幅出现在第5、7、11和13个波上，位于产生简谐波的三相电路上。驱动器变压器是专门为VFD负荷而设计的。在安装具有明显非线性负荷的电力分配系统前应该进行简谐波分析[5]。

接地

任何配电系统的接地都可以分为两个区域：系统接地和仪器接地。这两个区域互相独立，只在系统的电源处相连，称为辅助设备或单独系统（Δ-Y形变压器或发电机）。将中性导线在不同的点接地会造成地面电流循环而导致触发接地故障继电器和电路断路器，并会造成用电器产生噪声，这些用电器的外壳要求紧紧地与电路系统的接地设备相连[7]。

结论

由于制药设备的技术进步和药厂内与cGMP的其他设施的用电负荷，制药厂将越来越依赖可靠的电力供应。一个可依赖的供电系统不是一蹴而就的。它要求充分和细致的计划、施工、设计、安装、测试和维护。以上任何一个方面的缺失都将会削弱供电系统的可靠性并且会导致药厂失去电力供应。一个没有电力供应的药厂将是非常漆黑、寂静和不安全的。

参考文献

1. NFPA70, National Electrical Code; National Fire Protection Association: Quincy, MA. 2002 Ed.
2. Helwig, D. R. PECO Energy Services Requirements; Power Delivery Consumer Energy Services Group: Philadelphia, PA, Revised April 1996.
3. IEEE Standard 493-1997, IEEE Recommended Practice for Design of Reliable Industrial and Commercial Power Systems; The Institute for Electrical and Electronic Engineers, Inc.: New York, NY, 1st Printing, August 1998.
4. IEEE Standard 1015-1997, IEEE Recommended Practice for Applying Low Voltage Circuit Breakers Used in Industrial and Commercial Power Systems; The Institute for Electrical and Electronic Engineers, Inc.: New York, NY. 1st Printing, October 1997.
5. IEEE Standard 141-1997, IEEE Recommended Practice for Electrical Power Distribution for Industrial Plants; The Institute for Electrical and Electronic Engineers, Inc.: New York, NY. 2nd Printing, May 1996.
6. IEEE Standard 241-1990, IEEE Recommended Practice for Electrical Power Systems in Commercial Buildings; The Institute for Electrical and Electronic Engineers, Inc.: New York, NY. 3rd Printing, January 1998.
7. IEEE Standard 446-1995, IEEE Recommended Practice for Emergency and Standby Power Systems for Industrial and Commercial Applications; The Institute for Electrical and Electronic Engineers, Inc.: New York, NY. 1st Printing, July 1996.

（滕 洋 王 浩 译）

Z

制药设备的腐蚀

Paul K. Whitcraft
Rolled Alloys, Temperance, Michigan, U. S. A.

引言

腐蚀是由于环境作用发生的材料性能或质量的降级，它是影响到每一个行业的损失很大的现实。根据联邦公路管理局 2002 年发表的一篇研究报告可知，美国工业界每年发生的直接腐蚀成本保守估计是 2760 亿美元。跟腐蚀有关的成本包括阴极/阳极、保护涂层、抑制剂、防锈合金和材料以及维护、修理和设备的贬值等。间接成本，如生产效率的降低，环境或产品的污染，规划设计以及失去的机会往往比直接成本还要高出两倍以上。

认识到腐蚀对化工加工工业（CPI）的影响是较为容易的。联邦公路管理局指出，炼油、化工、石化、造纸、食品加工等工业每年直接损失达 135 亿美元，仅在化工和制药行业保守的估计是腐蚀成本约占投资的 8%。这一行业的估计数字 17 亿美元是非常保守的，因为它尚未包括操作和维护的费用。这些工业部门的腐蚀从轻微（结构暴露于大气条件下）到非常严重（强酸、高温、卤素环境）不等；此外，这些工业使用大量的水，水不仅用于化工，而且还用于加热和冷却。水是非常弱的腐蚀物，其性质使它有助于电化学腐蚀过程。耐腐蚀材料或系统的可接受的性能从几十年到几个星期不等。

制药工艺中的防锈控制是通过广泛采用不锈钢来实现的。防锈的主要考虑是防锈表面和防止产品污染的清洁措施。轻微腐蚀的清洗剂和盐溶液不起作用，在沉积物或缝隙中发生腐蚀，这是使用中最严重的问题。制药工艺要求的高清洁度标准有利于减缓腐蚀。

腐蚀基本原理

广泛采用的腐蚀的定义是由于环境作用随着时间发生的材料性能或质量的降级。我们可以简单地把这一过程想象为一种材料回到它热动力学最稳定的状态的倾向。对于大多数金属材料而言，这就意味着生成氧化物或硫化物，或其他一般被认为是矿石的基本金属化合物。对于聚合材料而言，最终结果可能是各种简单的有机化合物。只有在真空状态或在惰性气体中，腐蚀过程才有望完全停止。在大多数情况下，腐蚀过程是缓慢的，足以使设备的使用寿命够用。

腐蚀是一个电化学过程，腐蚀过程遵循热动力学的基本定律。在受控制的状态下，腐蚀是可以测量的、重复的、可预计的。但是，由于腐蚀发生在原子水平，腐蚀可以以局部加速的方式、均匀可见的攻击方式或在表面下微观损坏等形式发生。正常使用环境中的诸变量，如 pH、湿度、应力、表面光洁度、流量等将使这些过程和机理迅速变得复杂。由于这么多变量在起作用，有时腐蚀似乎不可预测，这是不足为怪的。

腐蚀的形式

金属材料的腐蚀可以多种形式出现。要研究出减缓腐蚀的对策，有必要懂得和认识腐蚀的基本形式。这些概念也可用于评估非金属材料。图 1 表示腐蚀的基本机理。

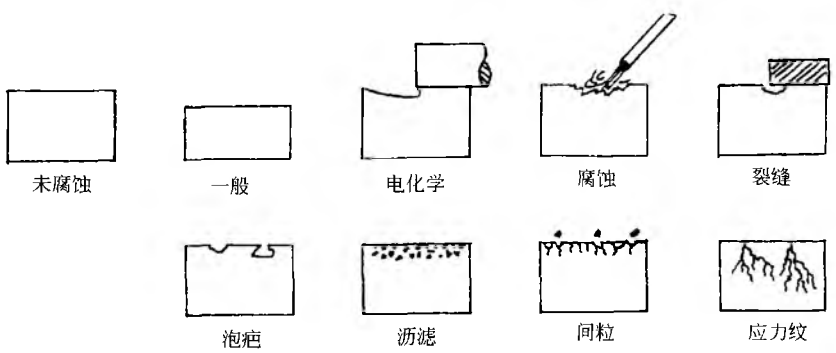


图 1 腐蚀的形式

Z

1. 均匀腐蚀

腐蚀的最简单形式是“均匀”或“普通”腐蚀。其特征是金属在整个暴露表面均匀地丧失。这种腐蚀形式最易于进行预计和测量。普通腐蚀的数据有许多资料，它列出在通常环境下许多材料真实的或有代表性的腐蚀速率，如果无数据可以利用，则可进行简单的实验室试验来模拟过程的环境。

最常用的报告均匀腐蚀的方法是单位时间内金属厚度的丧失。例如，每年几英寸或几毫米。由于均匀腐蚀是可预测的，只要使用一个合适的监控或检验系统，即使较高的腐蚀速率也是允许的。对于大多数化学处理系统，低于2mil/a（1mil=0.001in=2.54×10^{-5}m，下同）的腐蚀速率是可以接受的。常用工程材料可接受的腐蚀速率是2～20mil/a。在严峻的环境下，20～50mil/a的腐蚀速率从经济角度看是有理由的，超过50mil/a的腐蚀速率一般不能被接受。

对于制药工业这一具体应用，腐蚀率不仅要考虑对设备的影响，还要考虑所失去金属的去向。腐蚀产生的对其他产品的污染也是需要关心的，如有问题务须采用耐腐蚀程度高的材料。

2. 电化学腐蚀

当两种不同的金属材料电导通并置于一导电溶液中时，会产生一个电位差。这一电位差会使次贵金属（带负电）产生一个较强的溶解驱动力，同时也使贵金属的溶解倾向降低。

虽然环境的不同使相对电位差的值有所改变，但是它基本上保持恒定。因为在给定的环境中电位差与金属氧化成金属离子所需的能量有关。贵金属金和铂的电位在金属系列中最高（更惰性或阴极性），锌和镁的电位则最低（惰性小或阳极性）。表1列出海水中一系列金属的电性能序列。

表1 海水中的电化学腐蚀

次贵金属	镁	
	铍	
	铝	
	镉	
	低合金钢	
	铅铜	
	铜	
	海军黄铜	
	马氏体不锈钢	活泼时
	90:10铜-镍	
	铁素体不锈钢	
	70:30铜-镍	
	镍合金200	
	奥氏体不锈钢	
	钛	
	超奥氏体不锈钢	
贵金属	铂	

3. 侵蚀性腐蚀

侵蚀性腐蚀会导致腐蚀作用的加速，其归因于腐蚀物作用在暴露表面的速度。腐蚀物的运动与机械磨损有关。腐蚀的增加通常与表面保护层的脱落或损坏有关。这一机理通常由局部腐蚀来识别，局部腐蚀呈现腐蚀物流动的图形。

摩擦腐蚀（fretting corrosion）是侵蚀腐蚀的一种特殊形式。两种金属的表面接触，并经受非常轻微的相对运动，使两个表面之一或两个表面都受到损坏。同样，如果有腐蚀物存在，这一运动使保护膜受到机械损害，造成局部腐蚀。

侵蚀腐蚀的第二种形式是空腔腐蚀（cavitation）。这是泵叶轮上常见的一种腐蚀，它是在存在腐蚀物的情况下，在一金属表面附近由于小蒸气泡形成和破裂造成的腐蚀。保护表面膜被损坏，在这种情况下是由气泡破裂所引起的高压造成的。

4. 凹坑腐蚀

凹坑腐蚀本身是一种腐蚀机理，但也是一种经常与其他腐蚀机理联系在一起的腐蚀形式。它的特征是在局部发生大量金属的损耗。在极端情况下，凹坑似深的小孔，而表面上的其他地方不受影响。

凹坑的开始发生跟金属表面保护膜的破裂有联系。在某些情况下，凹坑深度迅速增大，环境通常也不允许对保护膜进行重处理或修复。在形成大量的浅凹坑的情况，被损坏的保护膜一般可以修复，但又会不断出现新的凹坑。

凹坑发生的局部化特点跟部件的几何形状、腐蚀过程的机理、成分不均匀或材料内部的缺陷有关系。凹坑一旦形成以后，其发展跟另一种腐蚀机理，即缝隙腐蚀机理联系在一起。

5. 缝隙腐蚀

缝隙腐蚀发生在某些环境中。因为缝隙内的环境状况随着时间的推移变得更活泼。在缝隙中腐蚀物运动很少，随着时间的推移，微小的局部腐蚀所引起的化学变化由于溶液未得到本体溶液的补充而被放大。

由于初始时腐蚀速度较小，缝隙环境的pH将变得更为酸性，或者有害的离子浓度会增加。因为流动性小，缝隙区域中可能会缺氧，或者会妨碍反应抑制剂的交换。

6. 选择性浸出

选择性浸出是从一合金中除去会与环境发生电化学反应的特定元素的过程。这类腐蚀中常见的例子是黄铜合金的除锌。通常在暴露于软水中时发生，在高二氧化碳浓度和有氯离子存在时会加速。

这一腐蚀的结果是形成多孔状，或者是原零部件变脆性的预兆。其他合金系统也容易发生这类形式的腐蚀，其例子包括铝-铜合金中选择性地失去铝，铸铁-碳钢中失

去铁。

7. 晶粒间腐蚀

顾名思义，这类腐蚀发生在金属材料中单个晶粒之间互相接触的地方。这些边界是天然的高能量区域。这是因为在材料自然状态的结构中，原子的位移频率较高。另外，这些区域也容易形成次生相，这些次生相在基质中就像小的岛状物，其基质具有与合金本身不同的化学成分。

根据不同的腐蚀物和合金体系，腐蚀首先从这些部件（次生相）开始，因为次生相本身易腐蚀，或者侵蚀在形成次生相的过程中局部脱离合金的周围基体。这两种机理都会造成金属表面沿着晶界发生侵蚀，随着侵蚀的深入，单个晶粒从基体分离，表面层呈多孔状。在腐蚀严重的情况下，表面结构变成颗粒状或粉末状，更会导致金属丧失的加快。

8. 应力裂缝腐蚀

应力裂缝腐蚀（SCC）的机理对某些合金（或合金体系）在特定的环境下是特殊的。它的特征是具有一个或数个裂纹，这些裂纹是由特殊的腐蚀物和拉伸应力共同作用的结果。

根据合金体系和腐蚀物组合的不同，裂纹可以是晶格间的或穿晶格的，裂纹传播速度的差异可以是很大，它主要受应力水平、湿度和腐蚀物浓度的影响。在有些剧烈化合作用下，如304型不锈钢在沸腾的氯化镁溶液中，在几个小时的时间里就可以产生很长的裂纹。幸好在大多数工业用途中，产生应力腐蚀裂纹的速度要比这小得多。但是由于裂纹的性质，只有当发生了很大的腐蚀以后才能检测出来，所以可能会导致意外的灾害性故障发生。合金体系和腐蚀物组合结果，即应力腐蚀裂纹（SCC），有充分的资料可查，应该在早期的设计阶段予以考虑。

除了应力腐蚀裂纹（SCC）机理以外，应力还有助于其他腐蚀过程。由于这一应力辅助的腐蚀与拉伸应力有关，从逻辑上可以预期到它会加速简单机械疲劳过程。腐蚀疲劳很难与简单机械疲劳区分开来，但在环境加速正常疲劳过程中它被看成是一个因素。这样的体系也有可能降低耐疲劳限度，因为疲劳会发生在某一应力条件下，在该条件下无环境影响，疲劳破坏是不希望发生的。

腐蚀监控

识别和监控腐蚀的最常用方法是视觉检查。泄漏、斑痕或表面状况变化可以说明正在发生某些类型的腐蚀，使用某些设备和工艺的经验可以帮助确定检查间隔的时间和应该检查的部位，器具的工作、维护、修理记录可以有助于建立性能模式，可以提高预见性，减少停机时间。

预计发生普通腐蚀的地方，依据装置或以前的检查的基线读数，可用简单的超声波测厚仪确定腐蚀的程度，不需要检查整个设备。检查注意力应集中在最容易发生腐蚀的部位，如液位、混合区或强紊流区。腐蚀探针可放置在加工设备或管道内，通过测量实际腐蚀电流或其他已知跟普通腐蚀速度有关的工艺参数，可以对腐蚀状态实施监控。持续监控和记录这些数据，可以预计设备的磨损或作出异常情况的警告。

检测更多的局部腐蚀，如缝隙腐蚀或应力腐蚀裂纹，可以采用其他的超声波检查技术。采用安装时产生的基线数据将有助于分析结果。这种检查技术带来的一个好处是往往检查时对生产不产生影响或很少产生影响。对易于产生应力裂纹的设备进行定期视觉检查也是一项有效的技术，特别是当同其他无损探伤技术，如着色浸润法一起使用时尤为如此。为了便于检查，必要时可以去掉涂层或绝缘层。

腐蚀过程及缓解

1. 腐蚀的电化学性质

腐蚀按其最简单的定义是材料回到自然界的热动力学状态的过程。对于大多数金属材料来说，这就意味着是在提炼成有用的工程材料之前存在着的氧化物或硫化物状态。

这些变化是电化学反应，它遵循热动力学定律。这一概念有助于理解为什么腐蚀过程会随时间发生变化和随温度发生变化，应用这一概念也将显示出减缓腐蚀的途径。腐蚀反应及速度受离子和腐蚀物浓度的影响，最基本的腐蚀反应之一是一种纯金属暴露于强酸环境时的氧化。熟悉的例子是将纯铁放入盐酸中。这样的化学反应是明显的，溶液开始剧烈地产生气泡，化学反应方程式表示如下：

$$Fe + 2HCl \longrightarrow FeCl_2 + H_2 \uparrow$$

反应的结果由逐渐消失的铁和氢气气泡快速升到溶液表面得到证明。从电化学角度来看，是发生了如下电子交换：

$$Fe + 2H^+ + Cl^{2-} \longrightarrow Fe^{2+} + Cl^{2-} + H_2 \uparrow$$

（Cl^{2-}应为$2Cl^-$更合理，但原著中为Cl^{2-}。——译者注）

铁元素释放两个电子，转化成铁离子（氧化），电子被氢离子接受。氢离子得到电子以后还原形成氢气。注意，氯原子本身没有参加反应。电子的转移发生在金属的表面，电子被释放的部位标注为“阳极”，电子被吸收的地方称为“阴极”。这两个区域之间存在一电位差，形成一个完整的电路。带负电荷的电子从阳极流向阴极，溶液中带正电荷的氢离子流向阴极完成这个完整的电路。金属的溶解速度越快（腐蚀速率越高），流过的电流就越大。从微观角度看，阳极和阴极的位置在物体表面上可以改变。事实上，当发生普通腐蚀时情况正是如此，阳极区域在金属表面上均匀地移动。

金属腐蚀中的阳极反应较为简单，反应时金属总是被氧化到较高价位。在普通腐蚀中，这会造成所有的合金元素形成金属离子。能够显示多化学价态的金属，在腐蚀反应中将经历几个氧化阶段。

对阴极反应的预测就较难，但可以将其归为如下五种

Z

不同类型的还原反应：

氢气的放出：$2H^+ + 2e \longrightarrow H_2 \uparrow$

氧在酸中还原：$O_2 + 4H^+ + 4e \longrightarrow 2H_2O$

氧还原-中性溶液：$O_2 + 2H_2O + 4e \longrightarrow 4OH^-$

金属离子还原：$M^{3+} + e \longrightarrow M^{2+}$

金属沉积：$M^{2+} + 2e \longrightarrow M$

2. 电池电位

了解电化学性能和可能的反应有助于预计腐蚀的可能性和程度。只有当有一个负自由能变化（ΔG）时才会产生反应。对于电化学反应来说，自由能的变化由下式计算：

$$\Delta G = -nFE$$

式中：n 为电子数；F 为法拉第常量；E 为电池电位。

为了使一个反应能够发生，电池电位必须是正的，电池电位是两个“半电池”反应之差，即阴极的半电池电位减去阳极的半电池电位。由于中性状态与氧化状态存在的差别产生半电池电位，如 Fe/Fe^{2+}；或者在阴极，中性状态与还原状态的差别产生半电池电位，如 H^+/H_2。这些还原氧化电位相对于标准的半电池电位可以被测出。表 2 列出相对于设为零位的 H^+/H_2 的电位值。

表 2 标准氧化-还原电势

25℃相对于氢电极的电势	
$Au \rightleftharpoons Au^{3+} + 3e$	1.498
$O_2 + 4H^+ + 4e \rightleftharpoons 2H_2O$	1.229
$Pt \rightleftharpoons Pt^{2+} + 2e$	1.2
$Ag \rightleftharpoons Ag^+ + e$	0.799
$Fe^{3+} + e \rightleftharpoons Fe^{2+}$	0.771
$O_2 + 2H_2O + 4e \rightleftharpoons 4OH^-$	0.401
$Cu \rightleftharpoons Cu^{2+} + 2e$	0.337
$2H^+ + 2e \rightleftharpoons H_2$	0.000
$Ni \rightleftharpoons Ni^{2+} + 2e$	−0.250
$Fe \rightleftharpoons Fe^{2+} + 2e$	−0.440
$Cr \rightleftharpoons Cr^{3+} + 3e$	−0.744
$Zn \rightleftharpoons Zn^{2+} + 2e$	−0.763
$Al \rightleftharpoons Al^{3+} + 3e$	−1.662
$Mg \rightleftharpoons Mg^{2+} + 2e$	−2.363

数据来源：A. J. de Bethune and N. A. S. Loud, Standard Aqueous Electrode Potentials and Temperature Coefficients at 25℃, Clifford A. Hampel, Skokie, IL, 1964.

电位差越大，反应的驱动力就越大。腐蚀是否会发生，是以什么速度发生，还取决于其他因素。为了使腐蚀发生，就必须有电流和完整的电路，电路还必须符合欧姆定律 $I = E/R$。这里计算出的电池电位表示两个单独反应的峰值。若电阻无穷大，电池电位将保持计算值但根本不会发生腐蚀。电路中的电阻取决于若干个因素，包括介质的电阻率、表面膜以及金属本身。当电流开始流动时，两个半电池反应的电位将相向略做运动。这一电位的变化被称为极化。

腐蚀电流一经确定以后，腐蚀电流的密度可以通过表面的面积来计算。但是，极化数据比估算腐蚀速度更有用，极化的程度可帮助预计腐蚀的类型和严重性。随着极化的增加，腐蚀减少，极化比阴极反应或阳极反应都优先。懂得了环境变化对极化的影响，有利于帮助理解如何控制腐蚀。例如，在铁-盐酸例子中，在阴极产生的氢气实际上可通过阻挡氢离子到达阴极区而使反应减慢（电路电阻增加），这样将造成阴极极化，减少了电流并减缓腐蚀速度。如果氧气从溶液中以气泡的形式出现，氢气将同氧气结合成水而去除更快，腐蚀速度将明显加快。虽然这是对氧的作用过于简化的观点，但确定指出极化程度可受环境变化的影响，无论是自然的还是人为的。

3. 极化

极化有三个基本要素，即活化、浓度和电位降。电位降是与环境效应和阳极与阴极之间电路有关的电压的变化。它包括了媒介的电阻效应、表面膜、腐蚀产物等。

活化极化是阴极或阳极的腐蚀反应的速率控制阶段。它的能够看见的例子是 H^+/H_2 的转化反应。这一过程的第一阶段，即 $2H^+ + 2e \longrightarrow 2H$，反应很迅速；反应的第二部分，即 $2H \longrightarrow H_2$，反应较为缓慢，可以成为一个速度控制因素。

浓度极化是由一种成分过量造成的。它阻碍了腐蚀过程，或者由缺乏一种对腐蚀过程的进展极为关键的成分造成。在上面介绍的一种情形中，过量的氢气浓度阻碍了反应的速度，就是一个浓度极化的例子。在这一情况中，浓度极化可以发生在阴极，也可以发生在阳极。

4. 极化的测定

尽管极化总是导致腐蚀速度的降低，但认识到环境对腐蚀电路的极化的影响，对于预计腐蚀行为是有用的。在腐蚀电位变化的同时，可以测出腐蚀电流。

阳极极化行为对于理解在不同环境中的合金体系常常最有用。阳极极化试验可以用相对比较简单的设备进行扫描，可在很短时间内完成。这些试验对于研究许多材料显示其活性-钝化性能极其有用。如其名称所指，在同样一种腐蚀物环境中，这些材料能够显示出高度抗腐蚀性能，或者是易被腐蚀活性。通常，显示这种性能的金属有铁、钛、铝、铬、镍。这些材料的合金也是具有这类性能的。

活性-钝化行为取决于材料-腐蚀物的组合，并随着这一特定组合中的阳极或阴极的极化效应的变化而变化。在大多数情况下发生活性-钝化行为。在金属表面有一薄膜，它比处于薄膜下的金属本身对环境的承受力更强。在不锈钢中，这一层是由各种氧化铬或氧化镍组成，其显示的电化学特性比其下面的合金显著不同。如果在腐蚀的环境中，这一耐腐蚀层（或称为钝化层）被损坏，新暴露出来的表面就会发生活性腐蚀，对这一层的损坏可以是机械损坏，也可以是电化学损坏。

铁在硝酸中的行为突出了认识钝化性质的重要性。铁在浓度为 70% 左右的硝酸中是抗腐蚀的。在这一状态下，铁经过钝化以后，随着硝酸的稀释它仍显示低腐蚀速度。但是，如果这一钝化膜被破坏，铁将迅速发生腐蚀。重新

钝化是不可能的，除非硝酸浓度再提高到一定水平。

5. 阳极极化

活性-钝化行为可以由图 2 的阳极极化曲线示意图来表示。从坐标底部开始，曲线开始时如预料的有一逐渐增加的电流。但在 A 点有一个显著的极性化效应，使电流下降到腐蚀基本停止的点。随着电位继续升高，电流没有什么变化，直到下一个临界阶段 B 点，该点处发生钝化膜断裂，腐蚀电流再次上升。

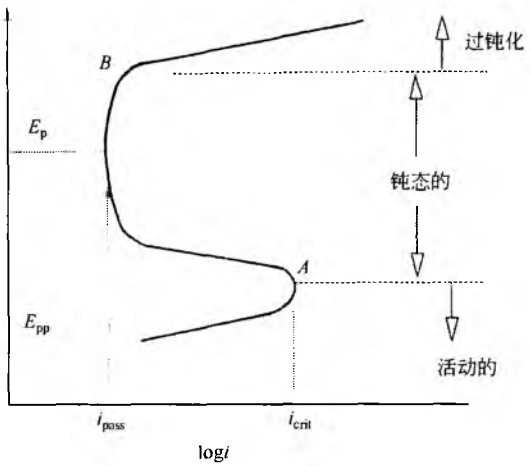


图 2　显示活性-钝化行为的材料的阳极极化曲线

即使阳极的极化性能是已知的，当腐蚀物发生较小的变化时，材料的性能将有很大的变化。图 3 就说明了这一情况。图 3 中的框图 1 表示阳极极化曲线与阴极极化曲线相交的情形，没有活性-钝化行为的材料就属于这种情形，阳极产生活性腐蚀的腐蚀率高，但是可以预计的。

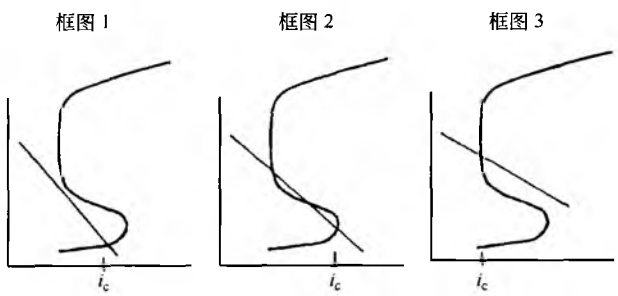


图 3　腐蚀环境能改变阴极极化曲线，产生钝化和活化的波动

图 3 中框图 2 表示使用显示有活性-钝化行为的材料时的情形，这一情形往往是很棘手的，在系统中变化很小。当材料处于钝化状态时，腐蚀电流很小；当开始产生活性腐蚀时，腐蚀电流则很大。

框图 3 为力求达到的典型情形，使用处于钝化状态的材料。在本例中，阴极极化曲线仅在钝化区相交，产生稳定的低腐蚀电流。在没有开始发生加速腐蚀时，这种类型的系统能够经受住轻度的不稳定状态。

腐蚀缓解

本章阐述的基本原理可以用于查明腐蚀问题，提供解决办法或其他途径，腐蚀控制的多种形式和方法就是建立在这一基础之上的。

阴极原理或“牺牲”保护是基于不同金属之间的自然电位差，可人为地将锌阳极同钢结构点接触，使得当锌发生锈蚀时，钢得到保护。在其他系统中，可在需保护的结构上加一定的电流，使之流到一个人工阳极。

由于类似的原因，最好用同样的材料制造系统，当不同的金属接触不可避免时，将贵重度低的金属表面面积做得尽可能大是有好处的，这样可以使产生的腐蚀电流分布在一个大得多的面积上，使总的浸入速度减慢。在许多这样的系统中，可以将一个合金系统同其他系统绝缘开来。

阳极保护的原理是基于对活性-钝化行为的理解。通过提高受保护零件的电位，使它可以从活性腐蚀的状态进入钝化状态。这一技术相当经济实惠，但应用时对工作条件必须严格进行控制，因为稍有过分的或不足的保护将反而会导致腐蚀速度的加快。

抑制系统的类型和种类有多种，而其基本逻辑也是根据上面所介绍的原理，抑制剂减慢腐蚀是通过增加阳极或阴极反应的极性化，或者通过增加介质的电阻来实现。

除了以上控制腐蚀过程的办法外，也可以通过对系统运行的环境条件进行控制来实现。温度对腐蚀过程会有明显的影响，这并不奇怪，因为这是一个电化学反应，而反应速率会随温度的升高而加快。

若不可能采用降低温度的方法，则可以去掉一种或几种对产品工艺影响并不关键的腐蚀物。卤素离子对许多材料的侵蚀性都特别大，其往往只是作为一种污染物存在，在许多工艺中可采用严格控制 pH。除了腐蚀物本身以外，还有外部环境对腐蚀的影响。

零件和介质的相对运动速度会对腐蚀速度产生直接影响。在某些情况下，增加腐蚀物在金属表面的速度会加快腐蚀速度。当发生浓度极化时，介质速度的增加会使浓度大的成分分散。但是对于钝化材料，增加介质的速度反而会使腐蚀速度降低。

部件的表面光洁度对腐蚀的方式和严重程度也有影响。粗糙表面或细裂纹会助长浓差电池的形成。由于沉淀物或薄膜会作为腐蚀的起始位点。那么表面清洁情况也是一个问题，生物生长像沉淀物一样，或者改变其下表面的化学成分从而促进腐蚀的发生。

最常用的、经济的防止有害腐蚀的办法是选择耐腐蚀的材料。除了选择合适的材料外，设备的制造和表面状态对其性能也有重要影响。金属表面的微小变化会影响到腐蚀过程。微结构的差别，如次生相或晶粒方向，也会影响到腐蚀的表现形式。对于晶界受侵蚀的腐蚀环境，材料晶粒的大小对材料性能快速地恶化起重要的作用。焊接沉积物结构的化学变化在某些腐蚀环境中也是必须要考虑的

因素。

腐蚀工程师在系统设计、材料选择、工艺或环境控制的修正中将起着重要的作用。解决的重点不一定是完全消除或避免腐蚀，而是选择最经济的控制和减缓腐蚀的手段。

材料选择

各种类型的工程材料系列在不断增加。随着材料的改进，不仅设备的可靠性有所提高，而且对采用的工艺提出了更苛刻的要求。这些结构材料一般可分为黑色金属、有色金属、塑料、弹性体和其他非金属。

1. 黑色金属

这一类材料包括应用最为广泛的结构材料，包括钢和不锈钢。在制药工艺的应用中，低合金钢一般仅限用于结构件，与产品接触较少。低碳钢成功地应用于蒸馏器，只要氧的含量保持在很低的水平。工具钢和模具钢用于干燥产品和估计不会发生腐蚀的地方。

2. 钢和不锈钢

在钢与产品或原料接触的地方，常采用不锈钢作为主要材料。不锈钢的生产始于20世纪初，可能是由于当时的人们观察到镀铬零件有较高的耐腐蚀性，因此推出了不锈钢的铁素体系列。有关这种等级钢研发的文献最早出现在19世纪20年代。最早的美国试验和材料协会关于《不锈钢的技术规范》在1935年出版。

目前，有七种基本的不锈钢系列，其成分为含铬11%～33%，镍0%～38%，钼0%～7%作为主要合金元素。这些系列如下：

- 铁素体；
- 奥氏体；
- 沉积淬火；
- 超铁素体；
- 马氏体；
- 铁素-奥氏双重体；
- 超奥氏体。

铬是一种容易形成氧化物的金属，其氧化物是透明的，极耐进一步氧化。它与钢组成合金还有一个优点，就是铬比铁活性大，所以倾向于先形成氧化物。当暴露于稍微潮湿的环境中时，加入约11%的铬即可以防止钢零件生锈，所以命名为不锈钢。

铁素体不锈钢是磁性的，具有体心立方体原子结构，其机械性能与碳钢相似，仅韧性比其稍差。这类材料在历史上称为400系列不锈钢，因为当初美国钢铁协会（AISI）开始有权命名合金成分时，这种钢的编号正好是400。目前，由统一编号系统（UNS）正式管理合金的标志。不锈钢合金的识别一般以“S”开头，后面跟五位数字。铁素体不锈钢由于耐腐蚀能力和强度均较低，在制药工业中很少得到应用。

马氏体钢的耐腐蚀能力仅取决于铬。由于它的含碳量一般比铁素体合金的高，所以其耐腐蚀性较差。不过，由于它在轻微的腐蚀环境中有一定的抗锈能力，再加上它强度高，所以马氏体合金适合做切削刀具、模具、齿轮、轴、滚珠轴承等。

3. 奥氏体不锈钢

奥氏体不锈钢系列是不锈钢中用途最广的。这些材料是非磁性的，具有面心立方体结构。其机械性能与低碳钢相似，但其成型性好。美国钢铁协会命名系统将这些合金中最常用的种类以300开头，称为300系列不锈钢。表3列出了一些标准奥氏体不锈钢的化学分析，将它们同其他几种材料系列进行比较。

表3 部分常用不锈钢和镍合金的化学组成

合金	类别	C	Cr	Ni	Mo	N	Nb	其他
430	铁素体	0.07	16.5	—	—	—	—	
304L	奥氏体	0.025	18.2	8.6	—	0.04	—	
316	奥氏体	0.025	16.5	10.5	2.2	0.04	—	
410	马氏体	0.1	12.0	—	—	—	—	
17-4 PH	沉积淬火	0.04	16.2	4.2	—	—	0.25	3.6Cu
合金20	超奥氏体	0.02	19.5	33.0	2.2	—	0.5	3.2Cu
AL-6XN®	超奥氏体	0.02	20.5	25.0	6.1	0.22	—	
Sea-Cure®	超铁素体	0.02	26.0	2.5	3.0	0.025	0.3	0.3Ti
2205	双重体	0.02	23.0	5.5	3.0	0.18	—	
C－276	镍合金	0.01	16.0	57.0	16.0	—	—	3.5W
625	镍合金	0.02	22.0	61.0	8.9	—	3.6	0.25Ti

注：AL-6XN®为Allegheny Ludlum公司的注册商标；Sea-Cure®为Colt Industries公司的注册商标。

当铁素体合金中含铬18%时则达到抗腐蚀的平稳段，要实现从铁素体向奥氏体的转变需要加入约8%的镍。加入这一成分的主要好处首先是能够达到奥氏体结构，这一结构同铁素体相比，其韧性、成型和焊接性都非常好。其次是它改善了对轻度腐蚀物的抗腐蚀能力，这其中包括耐大多数食品、各种有机化学品、温和的无机化学品以及大多数天然的环境腐蚀。

镍作为合金元素需要合理使用，因为它的成本要比铬高得多。然而，304号不锈钢在奥氏体-铁素体边界附近平衡是出于另外的理由。与304号钢相似的成分，在焊接后进行固化时不能生成铁素体，在固化过程中易生成裂纹，不易进行热加工。因此，如果在18-8成分中加入更多的镍，从耐腐蚀的角度来说没有多大好处，在其他方面反倒有害。

下一步要添加的重要合金成分是钼。这一元素在氧化环境下提供了优异的耐腐蚀性能，特别是在水锈蚀的情况下，它与铬和镍一起参加了钝化薄膜的强化。这层薄膜是在不锈钢表面形成的，只需加约2%的钼便可达到明显的效果。当直接加到18-8成分时，合金将含过多的铁素体，所以必须重新进行平衡，结果形成合金的化学成分大致是16%铬、10%镍、2%钼，这就是316号不锈钢。

奥氏体合金也采用稳定化概念。321号和347号不锈钢是304号不锈钢用钛和铌稳定后得到的翻版产物。这些元素与在焊接固化过程中从固溶液中析出的碳优先结合，所生成的有害的碳化铬虽然会使耐腐蚀性降低，但碳化钛和碳化铌并不影响耐腐蚀性。奥氏体不锈钢系列也促进了对避免碳化铬沉淀效应的研究。由于沉淀的铬的量与碳含量成正比，减少碳含量可防止材料过于敏感，如将碳含量保持在约0.035%以下，而不是通常的最大值0.08%，可避免碳化铬沉淀达到有害的水平，这一发现再加上熔化技术的改进，使许多这类合金的低碳改型得到研制成功。极低碳级不锈钢（例如，304L和316L）刚推出时，因生产成本高需要额外加价。随着现代化的氩-氧脱碳炉（AOD）的应用，这一差价基本上被消除了。

氩-氧脱碳炉作为熔化的最后精炼阶段用来使熔化钢与氧发生气泡，以便于去除碳和硫。在这个工艺中，暴露的溶液表面由惰性气体氩气来保护。这一装置也能用于氮气生成气泡，使它作为氮原子熔化在钢中。氮的作用跟碳相似，它使滑动面连接，从而生成较高强度的材料。

现代化熔化技术也导致了不锈钢冶炼的另一个趋势的发展。曾几何时，合金元素的化学成分允许范围在过去必须比较宽，以适应电炉溶液的不均匀性、化学分析的变化和原料的质量。例如，304号钢中的铬的含量曾经是8.0%～10.0%，在受热状态下有偶然误差。采用现在的技术，铬的误差可保持在$\pm 3\delta$极限，在0.5%或更好，其结果是目前的合金元素比15年前可节省0.5%～0.75%。

添加了钼等合金成分能够改进对卤素的局部耐腐蚀能力，但304L和316L不锈钢仍因经受不了氯化物的腐蚀而产生应力腐蚀裂纹。这一裂纹的机理表现为分叉的，一般为穿晶粒的裂纹，这些裂纹细微得无法探测，直至发展到不可收拾的地步才被发现。这种失效方式可发生在当奥氏体合金在有卤素离子存在的情况下，在温度高于120 ℉和受应力的条件下。Copsen的研究突出了含镍很低的铁素体不锈钢和含镍量超过20%的不锈钢的优点。事实上，这两种合金中镍的含量范围正好使合金在含氯化物环境中裂纹发生最快。

4. 双重不锈钢

含有大约等量的奥氏体和铁素体的不锈钢合金称为双重不锈钢。这种系列的合金是由原标志为329号的一种基本材料产生的。它经过平衡后含有较高量的铬，以及够用于生成50%奥氏体的镍和奥氏体材料。

这些合金具有一些有用的特点。首先，它们一般的抗腐蚀强度对于大多数介质而言都略高于316L；同时，由于镍含量保持较低，所以它们具有良好的耐氯化物腐蚀而产生的应力腐蚀裂纹的性能。双重不锈钢合金除了耐腐蚀能力好以外，它的强度也比典型的奥氏体钢的大。表4对普通钢和镍合金的典型机械性能进行了比较。

表4 部分常用不锈钢和镍合金的机械特性

合金	状态	张力/KSI	屈服/KSI	弹性/%	在某个温度下的韧性/(ft·lb)
430	退火	74	15	28	75（室温）
304L	退火	75	28	55	80（−300 ℉）
316L	退火	75	28	55	100（−300 ℉）
410	全硬	188	155	17	49（室温）
17-4 PH	900℃老化	198	183	15	16（室温）
合金20	退火	90	48	45	145（−300 ℉）
AL-6XN®	退火	110	55	50	85（−300 ℉）
Sea-Cure®	退火	95	80	30	DBTT（近−10 ℉）
2205	退火	98	70	25	80（−40 ℉）
C-276	退火	110	55	50	240（−40 ℉）
625	退火	120	65	50	35（−320 ℉）

双重不锈钢的成型性虽然比铁素合金好，但是其延伸性不如奥氏体系列，焊接时也应比奥氏体合金格外注意，因为易发生成分分离且其对焊接热量输入较敏感。如果制造技术使用不当，则设备的耐腐蚀性和机械性能可能达不到要求。

5. 超奥氏体

20世纪70年代至80年代，一种称为超奥氏体的不锈钢合金系列曾受到很大关注。这种材料的研制基础是1951年推出的卡本特20号不锈钢。这种合金中含28%镍和19%铬，并加入钼和铜，开始时它被用作铸造材料。

20Cb-3不锈钢作为介于316号不锈钢和更高的镍基材料之间的过渡材料在化工加工工业中曾受到欢迎。特别是它是对付氯化物应力腐蚀裂纹的经济实惠的办法。由于

20Cb-3 不锈钢含镍量高，它作为镍基材料的编号名称为 UNS N08020。但因为它的主要成分是铁，所以它是真正的不锈钢。称它为超奥氏体的由来是，它的组成远远不是奥氏体-铁素体边界。这一点跟 300 系列不锈钢不同。这种材料没有形成铁素体的可能。

对于含 35%镍、19%铬、2%钼的基本材料而言，改进抗凹坑腐蚀和缝隙腐蚀的主要途径是增加钼的含量。新推出的合金中包括 904L（UNS N08904），它将钼的含量增加到 4%，将镍的含量降到 25%。减少镍的含量是一个节省成本的措施，对不锈钢的一般耐腐蚀能力降低得并不多，而对氯化物的耐应力腐蚀裂纹则有充分的抗腐蚀强度。

在这以后的进展是将钼含量提高到 6%，同时通过在合金中加入氮抵消形成 Sigma 相的趋势。这一设想通过推出两种合金 254SMO®（UNS S31254）和 AL-6XN®（UNS N08367）得以实现。加入氮的主要好处是能将合金用于重型零件，如盘、棒、锻件。另一个好处是抗凹坑腐蚀强度增加。许多研究人员进行的大量工作证明了耐凹坑腐蚀或缝隙腐蚀能力与合金成分的关系。这一关系大致表达如下：

$$w_{Cr}（\%）+3.3\times w_{Mo}（\%）+16w_{N}（\%）$$

随着式中各个数据的增大耐腐蚀力的值也增大。对于海水环境下耐凹坑和缝隙腐蚀的能力来说，该数据超过 33 被认为是必要的。

6. 其他不锈钢

沉淀淬火系列不锈钢合金采用热处理来有意产生相沉淀，从而增强合金的强度。相沉淀是加入铌、钛、铜、钼、铝等一种或几种金属时产生的。冶金状态是指材料能够进行溶体处理（即所有的合金元素在固溶体状态，材料处于退火或低碳状态）。在这种状态下，材料可以机加工成型或焊接成所需要的形状。制造完成后将工件置于高温循环（老化），以达到理想的相沉淀，从而提高机械性能。

作为一类，这些合金的机械性能比较高，尽管不如马氏体低合金钢的那样高，但其耐腐蚀性非常实用。它们的一般耐腐蚀能力总的来说低于 304 号不锈钢。PH15-7Mo 和 A-286 合金的耐腐蚀性接近 316 号不锈钢。马氏体和半奥氏体的 PH 级合金能承受氯化物裂纹腐蚀。这些材料会受氢脆化的影响，在制药工业中这些材料可应用于阀门件、螺栓类或磨损表面。

在这些材料的耐腐蚀能力中最有用的特点，是铁素体合金的耐氯化物应力腐蚀裂纹的能力。20 世纪 70 年代期间研制的重点是生产同时具有全面的和局部的抗凹坑腐蚀能力的铁素体材料。

第一种能满足这一要求的有商业价值的合金材料含有 6%的铬和 1%的钼。为达到理想的耐腐蚀能力和可接受的制造性能，材料间隙元素的含量必须非常低。为达到这一水平，材料在真空下用电子束精炼，推出材料的名称为 EBRITE®合金，碳和氮的含量分别被控制在 0.020%以下。

Sea-Cure®（S43635）、294C®合金（S44735）材料是超铁素体材料中最近新研制出的两种。这些合金表现出极好的耐局部腐蚀性能。虽然含镍的超铁素体机械韧性较好，不易受间隙元素造成的污染的影响，但它们的用途仍局限于壁厚 0.100in 以下的热交换器管道。这是与从退火温度起冷却过程中形成脆相有关。为了避免韧度的损失，大于这一厚度的截面不能被快速的冷却。

7. 铸造不锈钢

以上的讨论是针对不同系列不锈钢的冶金术。讨论的合金是热加工材料（即材料铸造成锭后再经过热加工）。经过热加工后的钢其化学、机械、耐腐蚀性能均更加均匀，适合弯曲、焊接和加工。

铸造不锈钢除超铁素体外，其他的可分为与热加工材料相同的系列。铸件具有不需要大量的制造或机加工而获得复杂形状的独特优点。铸造合金每磅的成本比热加工材料的要低，因为其避免了热加工工序。铸造不锈钢也可以改变化学成分以提高其性能，否则无法像热加工材料那样进行加工。耐高温铸造合金，如 HK，通常碳、硅含量高，使其高温强度显著提高，但在常温下韧性低。这类材料的铸造结构比热加工材料的抗热疲劳强度低。

基本型奥氏体铸造合金的组成与相应的热加工材料相似，铸造材料中通常含有相当数量的 δ-铁素体。同焊接金属的固化一样，铁素体在固化过程中有减少材料形成裂纹的倾向。CF-8M 中的铁素体含量接近 20%，很容易吸收磁铁，虽然铁素体含量并不会让人担心，但铁素体在某些环境下，诸如尿素、硝酸、盐酸等环境中特别易受腐蚀。

相当数量的铁素体的存在是不锈钢合金铸件中可能遇到的一种分离形式。由于铸件的冷却速度一般比较慢，可能会形成其他次生相。碳化铬沉淀是对这些材料需要特别注意的问题。在大多数情况下，在将铸件投入腐蚀环境中使用之前，需要进行固溶体退火处理。

有色金属

1. 镍合金

镍对改善不锈钢的耐腐蚀能力非常有效，并在一些特种合金中用作基础材料。根据定义，镍合金的含镍量比其他的成分高，625 合金之所以广泛被使用，是因为它能耐包括盐酸等的强酸，并能耐卤素侵蚀。这一材料也具有良好的耐高温机械性能，因此被用于燃气涡轮机中。在制药工业中常应用的另一种镍基材料是 C-276，这一合金将镍的一般耐腐蚀性能同铬和钼的抗氧化及抗局部腐蚀性能结合起来。

镍合金在所有状态下都是奥氏体、非磁性，具有同奥氏体不锈钢相似的可成型性。不锈钢合金采用的焊接技术也可以用来对镍合金进行焊接。

镍合金系列最近扩展的品种包括能设计用于更严峻环境的材料，这种环境包括易引起缝隙腐蚀的热卤素酸。这

一类材料包括686合金、59合金和C-2000合金，其铬含量（22%以上）和钼含量（15%以上）较高。

2. 其他有色金属

其他重要有色金属包括铜、铝、钛及其合金。铜耐海水等大多数中性水和强还原酸，但它不耐氧化酸、胺、金属盐和硫化物，并容易受到高速度的风蚀影响。铝对耐大气腐蚀和中性水很有效，但是它在酸或碱中很快被腐蚀，因此铜和铝使用得很少。

钛的耐腐蚀范围就广得多了，它的用途与超奥氏体不锈钢和某些镍合金相似。它有很好的耐凹坑腐蚀和缝隙腐蚀能力。钛合金对多种氧化酸和还原酸的抗一般腐蚀能力也较好。虽然钛合金可以进行焊接制造，但是这种工序最好是在专门的车间内进行，现场制造和修理需要专门设备和采用专门工艺才有可能。

塑料

这是一大类材料，它包括热塑性和热固性聚合物。列表分析这些材料对各种环境的耐腐蚀能力，有大量资料来源可供利用。在化工加工工业中，常用的材料结构是聚氯乙烯和氯化聚氯乙烯（PVC和CPVC）、聚乙烯、聚丙烯、聚碳酸酯、聚四氟乙烯（PTFE）、玻璃钢复合材料和一系列用于涂层或黏合剂的环氧树脂。

这类材料是处理许多侵蚀力强的化工产品的解决办法，比起价格较贵的金属材料来，采用这些材料可以节省成本。但是与金属材料相比，某些重要的差别还是限制了它们的应用。首先，这些材料有一个很大的温度限制，一般范围为120～400 °F。许多材料局限于200 °F以下的工作温度。其次，这些材料的腐蚀不像金属材料那样表现为通过化学反应直接失去材料，而通常是由于腐蚀介质的渗入或吸收导致其性能的降低。这一腐蚀作用可以引起脆化、软化、起泡、龟裂、膨胀、溶解或其他物理性能的丧失。最后，这一材料的机械强度一般比金属材料低。这一点通常可以通过设计适当的外部支撑结构来改善。

在制药工业中，这些材料在常温下被用作散装储酸槽或干粉末存储器、饮用水管道输送、排水管及污水处理。美国食品和药品管理局（FDA）在联邦法规代码（CFR）第21部分第177章列出了允许与食品接触的材料的名称。

弹性体

弹性体或橡胶在化工工业中得到广泛应用。首先是天然橡胶，也包括氯丁橡胶、尿烷、聚酯、硅树脂和氟橡胶。这些材料以热塑料同样的方式经受性能下降，其温度限制也相似，可能还稍低一些。

在化工工艺和制药工业中，这些材料最广泛的应用是垫圈、密封圈、衬里、软管、绝缘层、驱动皮带等。

其他非金属

这类材料中包括混凝土、耐化学品水泥、陶器、玻璃。这些材料对在化工和医药工业中经常遇到的介质具有高度的耐腐蚀能力。通常它们的用途是受限制的。因为它们的性能偏脆，机械拉伸性能差，并对热震敏感。

耐化学品的水泥、灰泥、瓷砖能提供干净表面，如地板和墙以及外墙等。瓷器是典型的硅基陶材料，但也可以由金属氧化物、硝酸盐、硼酸盐、碳化物制得。虽然通常其耐腐蚀能力强，但会受到热碱和酸性氟化物介质的侵蚀。耐化学品的水泥浆使用无机黏接剂、充填剂和硬化剂，具体使用的配方必须根据所处理环境要求的耐腐蚀能力来确定。

玻璃制品和衬有玻璃的设备也具有较好的耐腐蚀能力，这一点同陶器材料相似，除了具有耐腐蚀的优点外，它还能制成非常清洁的表面。衬玻璃的容器在制药工业中用于反应器、搅拌器、储存器、传输管和高纯度水系统。

设备和保养的考虑

1. 焊接

从工程角度看，不锈钢焊接比较容易，对于其用途是一个突出的优点。由于堆焊是铸造结构，同其他铸造材料一样，其耐腐蚀能力容易受到大家的关注和讨论。堆焊的化学成分易产生分离，视合金和采用焊接技术的不同，会在焊接区或受热区产生有害的次生相。

除了堆焊的化学成分外，焊接技术也会对耐腐蚀能力产生影响。两种解决这一问题的途径已经讨论过，即将碳含量降到低水平，或者采用稳定剂防止铬的消耗。在现场组装的部件典型地采用这两种方法之一，因为若将工件进行退火处理，在大多数情况下既不实用又不能带来好处。

在许多情况下，焊接件的耐腐蚀性能略有降低是允许的。当对于所使用的合金而言环境非常恶劣时，焊接缝会首先受到锈蚀。这一状态可以由区域效应放大说明：较惰性的基础金属的焊接区较小。在现场焊接时，另一种可采用的方法是选择一种活性较高的消耗性合金，使堆焊比基底金属更惰性。基底金属受热区易首先发生腐蚀，典型的是304号不锈钢制成的焊接件，其含的碳将导致碳化铬发生沉淀。当然，采用一种不同的充填金属并不能避免这一状况的发生，唯一的解决办法是焊接后进行退火处理。

除了堆焊的化学成分外，焊接技术对耐腐蚀能力产生影响。首先，焊接面必须是洁净的，应除去脏物和油脂，含碳材料会污染堆焊，消耗合金中的铬。出于同样的理由，应避免电弧气刨或切割，还应当避免来自其他金属的污染。虽然游离铁熔化到堆焊中的情况可被忽视，但铁锈会影响可焊接性，至少它会导致熔接不完全或出现孔隙，严重时它会成为优先发生腐蚀的地方。焊接面的准备应使用锐利的工具

正确实施，再用不锈钢钢丝刷进行刷洗，以保证其洁净。

低熔点金属尤其需要引起人们的关注。熔化的铜、锌、铝会首先侵蚀奥氏体合金的晶粒边界。用于固定工件的铜合金夹具或夹头在焊接时会留下金属残痕，随后会引起裂纹。据悉，镀锌钢中的锌或涂层底的锌也会污染焊接处。

从强度和抗疲劳角度看，全熔透焊是一个良好的工艺，同时它也是防腐蚀的一个因素。未熔化的焊接处易含有腐蚀物和腐蚀产物，增加了产生氧或金属离子浓差电池的可能性。这就意味着当焊接厚度超过 3/16in 时通常必须将连接处焊成斜面。斜焊接面可以保证有充分的充填金属在有充分合金（overalloying）要求的情况下能够渗入根部。

最后，焊接区的表面光洁度应与基底金属的相似。虽然粗糙度稍高一些往往是不可避免的，除非焊接以后进行磨光，但是将焊接区的粗糙度控制在最小程度是有好处的。焊接溅污应通过磨光去除。为防止在固化过程中金属氧化的覆盖电极会在焊接过程中产生焊渣，必须在第二道焊接工序或投入使用之前把焊渣清除干净。焊渣沉积物留在表面会在腐蚀环境中产生缝隙腐蚀。

2. 钝化

不锈钢具有良好的耐腐蚀性能，因为其能在暴露表面生成氧化物保护膜，显示出钝化腐蚀行为。在通常情况下，不锈钢一经暴露在氧化环境中就能立即形成这一保护膜。当这一保护膜被破坏或未形成时，即发生活性腐蚀。某些工艺过程会阻碍这一钝化层再次生成，为确保它能生成，需要对不锈钢进行钝化处理。

最常用的钝化处理是将金属置于氧化酸中。硝酸和硝酸-氢氟酸混合物是不锈钢生产中最常用到的氧化酸。硝酸-氢氟酸混合物腐蚀能力强，通常用于去除热处理过程中形成的氧化物层。这一“酸洗”工艺具有两个好处：首先，它去除氧化层，使其下面的金属表面钝化；其次，由于它具有侵蚀性，可以除去由于生成氧化物层而形成的无铬层。

钝化处理不同于除去热处理中形成的氧化物层的过程，其使用的酸溶液的侵蚀度较小。这些处理的主要目的是去除零件表面的污染物，防止产生局部氧化物层。大部分常见的污染物是嵌入的，或者是来自模铸或加工工具的游离铁微粒。通过机械抛光可形成均匀的表面光洁度，除去这些污染物。抛光材料应只用于不锈钢，因为它可能将小微粒从一处传到另一处。此外，细颗粒的加工硬化态，甚至它是来自不锈钢器具，腐蚀具有较低的阈值，如果不去除则很容易成为腐蚀引发点。用稀硝酸（10%）能有效地去除游离铁或类似的污染物。对于铁素体、马氏体或沉淀硬化的材料，可采用带有重铬酸钠作为抑制剂的硝酸溶液，以便不使其过分地侵蚀不锈钢。对耐腐蚀能力较强的不锈钢合金，采用 1%浓度的磷酸和 20%浓度的柠檬酸也是有效的。也可使用市场上可买到的其他螯合剂。

3. 电抛光

电抛光实际上是有控制的腐蚀，使金属表面层均匀地去除电抛光不是钝化处理，尽管这一工艺的结果造成钝化表面。正确的电抛光技术使工件保持在电化学钝化范围内，钝化层最多只允许产生几个原子的厚度。电解同时促进了这一层的溶解。随着钝化的完成，电抛光过程也除去了表面杂质，这一点与钝化不同。在电抛光之后进行的清洁和冲洗过程中，材料因与冲洗水或空气中的氧气接触而发生自然钝化，不需要另加一道钝化工序。

电抛光采用的电解液通常是有专利的混合物，其成分是不透露的。每种电解液都有典型的成分，有助于抛光工艺中的三个作用，这三个作用是：①一种促进钝化膜破坏的污染物；②一个帮助形成钝化膜的氧化剂；③一种黏度很高的成分，它促进扩散层的形成。氧化剂和污染物有助于将工件保持在一种假钝化状态，同时有必要对扩散层进行控制，以促进金属均匀地丧失。图 4 为表示这一状态的动电位图。要对 316L 不锈钢进行电抛光，电解液往往含有过氯酸，它既提供氧化能力，又提供卤化物。乙酸酐可用来控制扩散层，对于不锈钢和高镍合金也可用硝酸、硫酸、磷酸、过氧化氢以及甲醇来进行控制。

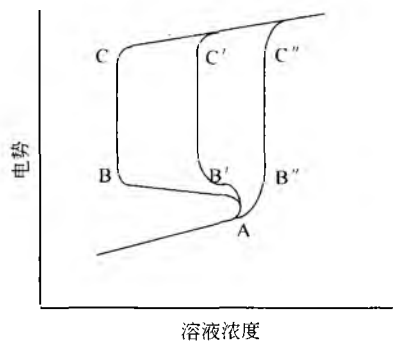


图 4 阳极极化曲线，说明在电抛光中形成并维持的不稳态

确定理想的电解质成分是这一工艺的重要部分。由于这是一个电化学过程，需要控制的其他变量包括电压、电流强度、溶液温度。如图 5 所示，电压过低会引起表面刻蚀，因为常规的腐蚀加快；电压太高会造成凹坑腐蚀。阴极设计是重要的，因为必须将电流仅可能均匀地分布到工件表面。

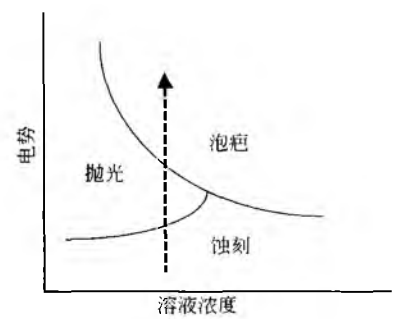


图 5 示意图显示，当抛光电势增加时，腐蚀会从蚀刻到抛光再到泡疤

4. 红铁粉

红铁粉是制药工业中具有特别意义的一种现象。它是指在高于常温下处理高纯度水的不锈钢设备或管道表面存在的一层氧化物。这包括蒸气系统、纯水、注射用水。氧化物可按成分、氧化程度、颜色、纹理、附着程度的不同而细分，虽然一般被证明是无害的，但存在这些沉淀物本身可能会引起担忧。

典型的红铁粉本身主要是由氧化铁或氢氧化铁组成，但是由于它是形成在不锈钢表面，它也包含铬、镍、钼的氧化物。经验数据表明，钝化层的抗铁红能力随着铬/铁值的增加而增加，也取决于钝化层本身的深度。由于电抛光和钝化二者都提高了铬/铁值，采用这些工艺能够增加抗红铁粉能力。即使是经过这样的处理以后，由于高纯度水的离子化效应也会破坏钝化层。这些水的氧含量低，使再钝化率降低，可能会导致该层停留在氧化的中间状态。这一过程的重复循环造成在钝化层中夹入各种氧化物，形成各种不同的颜色。

除去红铁粉可通过机械方法，但一般是用化学清洁剂来解决。采用硝酸、磷酸、柠檬酸或其他氧化酸溶液进行再钝化处理对除去或完全重新氧化这一钝化层是有效的。同其他化学反应一样，这一过程跟时间有关，并受温度的影响。对于比较顽固的红铁粉，可以采用氢氟酸或盐酸一类还原酸，与钝化处理一并进行。使用这些酸时，如果浓度过高可能会刻蚀表面。

动电位的极化研究被用于测量钝化处理的效果，证明破坏电位（凹坑电位）因采用钝化技术或电抛光技术而被提高，产生了较高的铬/铁比例，钝化层深度也增加。这一电位比机械抛光或酸洗表面的电位可增加 50～100 mV，相当于增加了抗红铁粉的能力。6%钼合金 N08367 的破坏电位比在加强钝化处理以前提高 400 mV，在这个处理以后又增加了 50 mV。通过这一分析说明，N08367 或 C-276 一类高耐腐蚀合金抗铁锈红能力较强。

小结

本讨论是关于腐蚀和腐蚀过程的基本知识。概要介绍了制药设备制造中能用到的金属和非金属材料，以及关于这些材料应用的特殊考虑。材料供应商和制造商是宝贵的信息来源，应当将其在设计过程中进行参考。由于腐蚀过程常常是复杂的，应在进行原始设计或性能分析时将腐蚀专业工程技术人员的作用考虑进去，无论是将其作为本公司的团队还是作为外聘顾问。

参考文献

1. Brasunas, A. NACE Basic Corrosion Course; National Association of Corrosion Engineers: Houston, TX, 1970.
2. Dillon, C. Corrosion Control in the Chemical Process Industries; Material Technologies Institute for the Chemical Process Industries: St. Louis, MO, 1994.
3. Darken, L.; Gurry, R. Physical Chemistry of Metals; McGraw-Hill: New York, NY, 1953.
4. Fontana, M.; Greene, N. Corrosion Engineering; McGraw-Hill: New York, NY, 1967.
5. Gonzalez, M. Materials of Construction for Biopharmaceutical Systems. In ASME Bio Process Seminar, San Juan, PR; January, 2003.
6. Grant, A. CIP and Passivation. In ASME Bio Process Seminar, San Juan, PR; January, 2003.
7. Henthorne, M. Corrosion, Causes and Control; Chemical Engineering Magazine: New York, NY, 1971—1972.
8. McGannon, H. The Making, Shaping and Treating of Steel; United States Steel Corporation: Pittsburgh, PA, 1971.
9. Sedriks, A. Corrosion of Stainless Steels; John Wiley and Sons: New York, NY, 1979.
10. Schweitzer, P. Corrosion and Corrosion Protection Handbook; Marcel Dekker: New York, NY, 1996.
11. West, J. Electrodeposition and Corrosion Processes; Van Nostrand-Reinhold: London, UK, 1971.
12. 20Cb-3 Stainless Steel; Carpenter Technology Corporation: Reading, PA, 1987.
13. AL-6XN Alloy; Allegheny-Ludlum Corporation: Pittsburgh, PA, 1991.
14. Corrosion Costs and Preventative Strategies in the United States, A Review by Materials Performance, MP Supplement; July, 2002.
15. Mechanical and Physical Properties of the Austenitic Chromium-Nickel Stainless Steels at Elevated Temperatures; The International Nickel Company: New York, NY, 1963.
16. Metals Handbook, 10th Ed.; ASM International: Materials Park, OH, 1990.
17. Steel Castings Handbook; Steel Founder's Society of America: Rocky River, OH, 1981.

（蔡宏奎 龚 忠 译）

Z

制药设备用材料

Michelle M. González

Amgen Inc., Thousand Oaks, California, U. S. A.

引言

制造药品生产设备及相关系统所用的材料必须能够耐温、耐压、耐腐蚀，从而保证产品的纯度和稳定。这些材料还必须有非常高的洁净度，无论是无菌产品或溶液，还是非无菌产品或溶液，尤其是与样品接触的表面材料。接触面是指所有与药品接触到的表面或液体流经的表面。溶液接触面是指专用于供应和循环洁净或无菌溶液的管道内壁[1]。

多年来，制药设备所用的材料主要是不锈钢，特别是洁净度要求高的设备与连接系统（如管道、在线监测器等）所用的316L型钢材。然而现在也愈来愈多地使用塑料制品来达到同样的要求。其中最常见的是含氟塑料，有聚偏氟乙烯（PVDF）、聚四氟乙烯（PTFE）以及全氟烷基树脂（PFA）[2]，还有热塑性塑料，如聚丙烯（PP）。此外弹性体，如乙烯-丙烯-双烯橡胶（EPDM）、“耐蒸汽”的氟橡胶（FKM）、铂处理硅胶管（pt-Si），以及使用化合物KLR-6221和KLR-6230的Kalrez®全氟橡胶（FFKM）[3]已在密封与弹性设备中发挥重要作用，这些材料可以满足联邦法规条款（CFR）第21条食品与药品cGMP的要求。

本章的目的在于比较各种材料的生产技术以及各自用途，特别是工艺和支持系统，并且对其在药物生产过程中对微生物的影响进行比较。

不锈钢

1. 不锈钢的选择

不锈钢毫无疑问可以满足生物处理的需要，这不仅因为它们耐用、易得、易加工，而且由于它们耐腐蚀、不易污染、可以打磨得非常光滑、质地坚硬、能够耐受高温与化学灭菌以及易焊接。不锈钢的标准种类有70多种，都是18-8的铬镍不锈钢（18%铬，8%镍），包括304和316以及它们L型或低碳含量的品种。为了有更好的耐腐蚀性，新的更低碳的铬镍不锈钢AL-6XN®（6%钼）和镍合金、Hastelloy B和Hastelloy C在制造反应容器、管道和接头中变得十分重要（表1）。最后，不锈钢合金，如CF-8（类似于304）、CF-8M（类似于316）、CF-3M（类似于316L）在制造泵、各种各样的阀（特别是球阀）以及接头中也起着重要作用。

表1 化学组成

元素		质量分数/%				
		304	304L	316	316L	AL-6XN®
Cr	铬	18.0～20.0	18.0～20.0	16.0～18.0	16.0～18.0	20.0～22.0
Ni	镍	8.0～11.0	8.0～13.0	10.0～14.0[1)]	10.0～15.0	23.5～25.5
C	碳	最多0.08	最多0.035	最多0.08	最多0.035	最多0.03
Fe	铁	平衡	平衡	平衡	平衡	平衡
Mo	钼	—	2.0～3.0	—	2.0～3.0	6.0～7.0
Mn	锰	最多2.0	最多2.0	最多2.0	最多2.0	最多2.0
Si	硅	最多0.75	最多0.75	最多0.75[2)]	最多0.75[2)]	最多1.0
P	磷	最多0.040	最多0.040	最多0.040	最多0.040	最多0.040
S	硫	最多0.030	最多0.030	最多0.030	0.005～0.017[3)]	最多0.030
N	氮	—	—	—	—	0.18～0.25
Cu	铜	—	—	—	—	最多0.75

1）11.0～14.0（A269）。

2）0.030（A269）。

3）硫对焊接影响最大，控制硫有利于环形轨道自动焊接，而减少稳定性问题的出现。为符合ASME BPE标准，ASTM增加了A270-98a“补充要求”，S2。药用质量的管子——S2.1.1。

2. 标准与条例

一些制药企业认为那些监管药品生产的严格规范与食品业和乳品业的规范没有可比性[4]。事实正好相反：现行关于管道制造、产品/溶液接触面以及设备安装的标准与规范源于乳品业公认的 3-A 洁净标准和执业标准（33-00 和 605-04）。这些标准由国际食品安全协会（IAFP）［即原先的国际乳品食品与环境卫生协会（IAMFES）］颁布，它包括：①乳品生产线中抛光金属管道、设备以及接头的洁净度；②管道及用于清洁管道与设备的循环预洗、淋洗溶液的在线清洗单元的清洁。

随着制药工业的发展，通过利用活的生物或来源于生物的物质（生物技术），采用微生物和生化技术生产或改进产品，需要更严格的法规。这方面的法规很多涉及设备的洁净与无菌，生产方法的标准化，容器、仪器与设备的标准统一。美国机械工程协会（ASME）通过其规范与标准理事会（CSS）以及压力技术理事会的指令发起建立了现在所谓的生物加工设备（BPE-2002/BPE-a2000），作为美国国家标准。该标准直接（或作为参考）规定了用于生物加工的容器与管路的材料、设计、制造、检查、监测、认证（指压力系统）以及压力释放（压力系统），包括对清洁与消毒的设计（Part SD）、自动焊接的尺度与公差、符合卫生标准的管套配件（Part DT）、材料连接（Part MJ）、内壁打磨（Part SF）以及设备用的密封塞（Part SG）。该标准涉及生产、开发到放大中所有与产品、原料或中间产物接触的部分，以及在产品生产中起关键作用的所有设备或系统，如注射用水（WFI）、纯净的蒸汽、超滤和中间产品的储存。

ASME BPE-2002 提出了设备与组件设计的要求，其他条例和标准对关键组件与公用设施（尤其是管道、配件）的搭建提出了特殊的要求。最典型的有美国材料与测试协会（ASTM）A269“通用无缝和焊接的奥氏体不锈钢管标准”、ASTM A270“清洁无缝和焊接的奥氏体不锈钢管标准”，以及 ASTM A312/ASME SA312“无缝和焊接的奥氏体不锈钢管标准”。

3. 产品/溶剂接触面的抛光

表面抛光包括所有可接触和不可接触的内表面抛光，即直接或间接接触 BPE 的指定产品和配送系统的组件。表面抛光已经定义了一些不同的名称或计量单位，如 Grit 数、美国抛光数，常用名为 Ra（μin）、Ra（μm）、Rmax（μm）、RMS、ISO 数等[5]。这些表示抛光程度的参数都有各自的用途，但是这些参数之间又相互重叠，极其混乱（表 2）。

用一个能被广泛认可的指标和测定标准来评价表面光滑度显得越来越重要，最终用 Ra 值作为评价的标准。这个标准被称为算术平均粗糙度，由 ANSI/ASME B46.1“表面特征-表面粗糙度、波纹度和花纹方向”来定义在取样长度（L）内从中线测量构成不规则物粗糙程度的算术平均高度（图 1）。Ra 引申的单位通常是 μin，一般用表面光度仪或管道镜进行测量。

表 2 表面测定的比较

RMS/μin	RMS/μm	Ra/μin	Ra/μm	Grit 数
80	2.03	71	1.80	80
58	1.47	52	1.32	120
47	1.20	42	1.06	150
34	0.86	30	0.76	180
17	0.43	15	0.38	240
14	0.36	12	0.30	320
		4～8		320 EP
		10		400

注：DCI 公司提供。

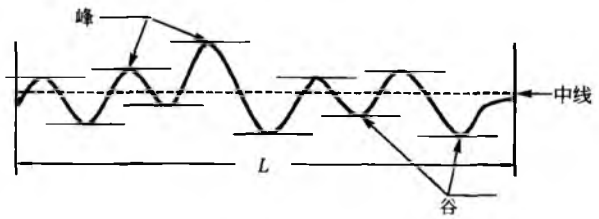


图 1 表面质地的示意图

4. 电抛光

由于制药行业要求产品/溶剂接触面光滑以获得更纯的产品，减少因表面不光滑而导致细菌滋生以及不同产品间的交叉污染[6]，因此除了表面的机械抛光，洁净管道和组件也要高度光滑。

这些表面的处理是用电镀，也称为“化学涂层”和（或）“转向电镀”。这种技术在去除不锈钢表面的缺损上远优于其他已有的机械处理。通过将阳极溶解于流动的混合酸中，有时加入有机添加剂，电解质和阴极通过管子或组件（阳极）的内部，可以达到电抛光的目的。当达到适合的电解液电流温度时，表面不规则的位点（或电流密布区）较其他表面被选择性地快速去除，从而达到更高的标准（图 2 和图 3）。

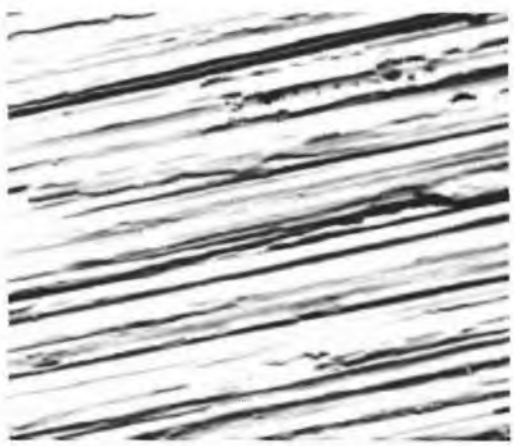


图 2 在放大 1000 倍的扫描电镜下，电抛光前机械抛光的不锈钢表面较粗糙

Z

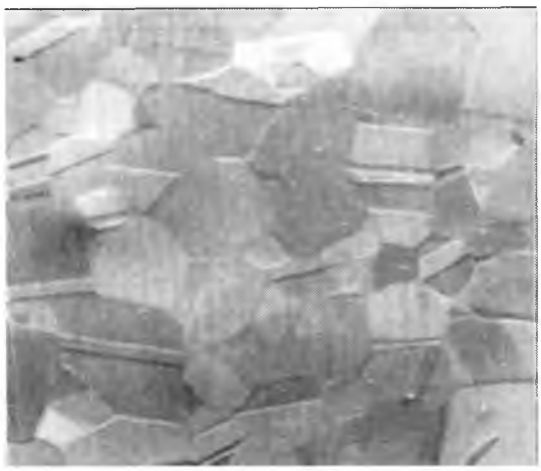


图 3 在放大 1000 倍的扫描电镜下，电抛光后同样的表面较光滑

除了外观，EP 产品还有其他优点，比如，极光滑的表面能减少碎屑的黏附，高铬/铁可以增加材料的耐腐蚀性，表面钝化层中没有铁的污染，从而可通过目测检查表面缺陷，并且通过减少应力改善机械性能。

5. 连接技术

在 ASME BPE-2002 Part MJ 部分，介绍了 BPE 对接口的要求，包括瓶子与容器［ASME 锅炉和压力容器规定（BPVC），条款Ⅷ，第 1 条］、泵、管子（按 ASME B31.3 的要求制作）、软管和接头，限于接触生物处理样品或蒸汽的工艺系统。压力容器、管道与洁净管道系统的焊接工艺也要符合 AMSE BPVC 条款Ⅸ。

由于管道系统在建造生物处理设施中难度最大，所以应给予这些系统连接的常规方法特别关注。管道之间或管道与接头之间的连接甚至管道/接头与设备之间的连接可以通过多种方法实现。然而机械接口可能会携带杂质，因而要尽量少用法兰、丝口接头以及医用夹子。设备应优先采用直角对接焊缝，因为这种方法能使污染降到最低。

6. 自动环焊

直角对接焊缝通常是使用自动环焊设备，它能使管壁与接头，不用任何填充物（自身焊接）而在完全惰性的环境中焊接起来[7]。事实上，在钨电极（安装在焊接头的马达中）与管道间形成电弧来实现熔融焊接，这一过程由一系列的点焊组成，同时，焊接的主气流渗透到材料中而副气流起到冷凝搅炼过程的作用。使用这种设备得到的焊接点的质量可以通过使用的两片厚度与性能接近的材料来预测，因此，要特别注意材料与组件的选择。

焊接的实际操作要求管道/管道或管道/接头同时置于焊接头（图 4），将夹钳稳固地固定待焊接的两个部分并使焊接头的钨电极与之成一直线。然后焊接头将待焊接的部位夹紧，从而形成一个充满保护气的焊接室。保护气的作用是保护材料在焊接的过程中不被氧化，通常这种保护气是氩气。同时将管道内部氧气排空从而使氩气完全覆盖所有待焊接部位。在机器上设置好焊接的程序，所有的操作便自动进行。焊接时内部的电极环绕接缝处旋转而焊接头不动。当焊接结束，焊接头可以打开并立即从焊接部位移走。



图 4 自动环焊用于连接两条长的成切线的不锈钢接头

7. 不锈钢的钝化

钝化是焊接和（或）清洁处理后的一步程序。通过引入氧气，钝化能保存氧化铬薄膜（也有少量铁与镍的氧化物），也能保存不锈钢在接触氧气时自然形成的氧化膜。在 ASTM A380“不锈钢组件、设备、系统的清洁与除锈的标准化操作”中，介绍了对关键的水、产品和工艺系统的清洁与钝化的方法与检测规范。

钝化能够除去/溶解耐腐蚀表面的游离铁以及其他阳极污染物，使表面的金属化合物主要是铬和铁的氧化物。由于焊接会使铬还原而减少铬的含量同时增加铁的含量，从而破坏钝化层并使铬/铁比例（这是耐腐蚀的重要指标）改变，因此在成功完成焊接后，焊接的部位及周边要重新进行钝化处理。同时，在典型的 WFI、反渗析（RO）、去离子水（DI）、纯净蒸汽的某些常规操作条件下和一些生产系统中，以及在一些罕见的情况下，CIP 系统通常会出现常见的自催化腐蚀（红铁粉）现象，它是包含多种形式铬和镍的铁氧化物的一种胶状形式。这一问题在使用高温、腐蚀性化合物以及超纯水时尤为严重，并且只能通过再次钝化得到解决。

一些最能被大家接受的检测、测量、定量铬/铁从而保证钝化层质量的方法是检测游离铁的 Ferroxyl 试验、X 射线电光子分光光谱法（XPS）、化学分析的电子分光光谱法（ESCA）以及 Auger 电子分光光谱法（AES）。

Z

塑料

ASTM对塑料的定义为："包含一种或多种有机聚合物的大分子物质，其最终形态是固态，但是在生产加工的某些过程中可以变为流体而改变形状，这样一种物质称为塑料。"

制药与生物技术企业正面临着诸多挑战，比如日益激烈的竞争、兼并、全球化、高额的研发费用，以及生产标准化与指南的要求，因此在建造时使用其他材料成为日益重要的问题。虽然使用不锈钢有许多优点，但是大量易得的热塑材料以及含氟塑料可以降低成本，具有质量轻、完全耐腐蚀性、无须钝化以及内壁极其光滑等优点，被越来越多地用于各领域，特别是在处理如纯水（PW）、配送环路等过程。

1. 氟聚物或含氟塑料

含氟塑料是热塑性石蜡样聚合物，分子中氢被氟取代，有些被氯取代。

1.1 PDVF——FDA 21 CFR 177.2510 批准

PDVF是一种高强度、耐磨、适用温度范围宽的碳氟材料。除了没有被完全氟代，PDVF与PTFE完全类似。气体在制药用水流路中的渗透是造成污染的部分因素，PDVF相对惰性并且能够阻断气体的渗透。它对大部分酸、碱、有机溶剂都有耐受性，因此是处理干的或湿的氯、溴以及其他卤素的理想材料，但不适合处理强碱、浓酸、极性溶剂、胺、酮和酯。PDVF抗张强度高，具有较高的相转变温度。它能够被表面抛光得极其光滑，并且通过熔融易于连接（可避免内部气泡或断裂），不需要丝口或翻边。

无菌系统的关键部位是水系统，它必须很纯。高纯水的定义是"纯化到自然界中所达不到的级别的水"。高纯水必须达到美国环境保护署（EPA）对法定水供应（指那些在药品中用作组成成分）的饮用水标准、美国药典（USP）PW和USP WFI的标准。由于水的高纯度要求，所以要求所用材料的纯度高表面与连接部位必须低脱落性以及可升温清洗。天然不上色的PVDF，在PW配送水的系统中已经成为最重要的替代材料。

然而PVDF主要用于常温水系统中，因为研究发现PVDF在受热后，材料会脱色，所以对其在热的（176 ℉[①]）WFI配送环路中使用有一些质疑，主要原因是观察到热会引起其褪色。脱色是由于PVDF化学结构中原子水平有所改变。管道测试结果表明，PVDF与热的超纯水接触1～16周后，没有明显渗漏，而且接口仍很牢固[8]。

1.2 PTFE——FDA 21 CFR 177.1550 批准

自从1950年DuPont公司的Teflon®产品问世以来，PTFE作为含氟塑料能够耐受所有已知的化学试剂或溶剂，而且是所用商品化塑料中耐受温度最高的材料（－200～500 ℉）。它还具有极低的摩擦系数、高冲击强度以及低表面能。通常的加工技术如注射成型不能适用于PTFE，它必须先被压成块状，然后再用机械加工成抛光的产品。PTFE树脂在室温高压下处理，然后加热到700 ℉成型（烧结处理）并且调节晶体组成。

PTFE因其弹性回复特性，是一种自润滑材料，可用于密闭和弹性设备中，如用作机械密闭系统中无菌塞、膜阀、O形圈、塞杆中的密封塞与座、旋转阀（如球阀）。PTFE也常用于制药工业中泵和阀的衬垫和覆盖层。

1.3 PFA树脂——FDA 21 CFR 177.1550 批准

在最适用于管材的可热融操作的含氟聚合物中，PFA表现出制药工艺所需的极好的耐热与化学耐受性。然而PFA在升温后的物理强度不如PTFE，因而必须通过加厚来克服其强度的不足。实验证明：在许多材料中，包括不锈钢、玻璃、镀硅玻璃、PP以及PVDF，PFA最不易受污染与微生物生长的影响，甚至在适宜湿度加入蛋白质与微生物的情况下[9]。PFA已经证明可以用于CIP-SIP操作、超纯水、WFI与制药设备。

2. 热塑体

热塑体有一个明确的熔融温度，它们能被熔融、冷却、再熔融而保持聚合物原有物理或机械性能不变。

PP——FDA 21 CFR 177.1520 批准

PP是聚烯烃聚合物，它可能是应用最广也最经济的热塑体。这种结晶性聚合物有一系列性能。首先，它最重要的性能是，相变温度高于其他常用塑料（195～240 ℉）。因而，它具有很高的耐热性（作为管道可耐受到212 ℉）。其次，PP是常用热塑塑料中最轻的（未成型时相对密度只有0.91）。此外，PP质地硬，化学耐受性好，可以耐受腐蚀品、溶剂、酸以及其他有机化合物。然而，在具强氧化性的酸、洗涤剂、低沸点的碳氢化合物、醇以及一些含氯物质中不建议使用PP。由于PP是一种相对惰性的材料，对制药用水造成污染的可能性很小，所以它非常适于用作管道系统。PP还被证实非常适于用作处理实验室或工业中含酸、碱、各种溶剂混合的废液的排水管道。能用于耐压系统中的PP有40或80，它们能通过溶剂承插焊接、热封处理、丝口（仅限于Sch.80）或法兰连接。塑料管行业证明碳含量超过2.5%的PP聚合物可以使用25年以上。

3. 密封材料

密封材料是形成或维持系统组件或子系统间分界面，从而确保在经过验证的工艺和应用系统中系统完整性的部

① 华氏度（℉）与摄氏度（℃）的换算公式为$\frac{5}{9}$（T－32），下同。

件。对密封材料有如下要求：①具有生物相容性，能够与细菌或哺乳细胞接触而不影响其代谢或生长与增殖；②耐腐蚀，不渗漏；③表面不能有成型不完整的现象；④密封部位表面不能有外来物质的污染；⑤不应生成会吸附产品的微粒。

弹性体（可以重复拉升或压缩，在取消外力时能够基本回复原样的物质）是长链共聚物或三聚物（两种或三种单体在一条分子链中），这种聚合物各自链段中形成大量的缠绕。含氟弹性体比碳氢弹性体或含硅弹性体有更好的稳定性，这是由于碳-氟键比碳-氢键的强度要高30%。制药工业中被FDA（21 CFR 177.2600）批准使用的弹性体主要有五种：EPDM、FKM、铂处理的硅胶、FFDM KLR-6221和KLR-6230。在用于医药密封件的化合物中，FFKM的化学耐受性最广，并且易加工成许多标准或定制的密封件[10]。

总结

显然，生物技术工业在选择制造与产品接触或溶液接触的表面材料时，要特别注意。关注的重点主要是洁净程度与耐腐蚀性。因而，整个行业都在新材料的研发与使用上投入了大量的时间和精力。利用这些极有价值的资源来成功设计与制造系统的关键是对现有条款与法规的了解和遵守，以及对高新技术的掌握。

参考文献

1. International Association for Food Protection (IAFP), 3-A Sanitary Standards.
2. Wulf, B. Pristine Processing—Designing Sanitary Systems. Chem. Eng. 1996, (November), 76.
3. Duzick, T. C. The Impact of Elastomer Performance on Pharmaceutical Manufacturing Processes. Pharm. Eng. 2000, (2), 22－34.
4. Kaupish, K.; Baker, E.; Sander, B.; Harmon, C. GMP Environments: Applications of Food and Dairy Industries Standards in Pharmaceuticals. Pharm. Technol. 1991, (October), 12－14.
5. Tabenkin, A. To Each His Own Parameter? Qual. Digest 2001, (June), 37－39.
6. Tverberg, J. Ensuring Quality in Electropolished Stainless Steel Tubing. Tube Pipe J. 1998, (September/October).
7. Henon, B. K., Ph. D. Orbital Welding in Compliance with the New ASME Bioprocessing Equipment (BPE) 1997 Standard. Pharm. Eng. 1999, (January/February), 44－58.
8. Burkhart, M.; Wermelinger, J.; Klaiber, F. Is Polyvinylidene Fluoride Piping Safe for Hot-Ultrapure-Water Applications? MICRO 1995, (February), 27－31.
9. Fleming, J. R.; Kemkes, D. P. Using Ultrapure Plastic Tubing. Chem. Eng. 2000, (February), 111－114.
10. http://www.devicelink.com/mddi/archive/00/12/002 (accessed Dec 2001).

（谢 操 译）

Z

制药用水

Leonid Shnayder

Aker Kvaerner Pharmaceuticals, Bridgewater, New Jersey, U. S. A.

引言

在大部分制药设备中，水处理是关键设施之一。水可以用作溶剂、产品成分、清洁剂等。其中，一些用途的水要求其纯度高于城市供水。因此药厂装有自备的水净化系统，这也是药厂基础设施中的关键设备。

为何市政供应的饮用水需要经过处理才能用于药物生产？为解决此问题，我们首先要了解一下城市水厂的两个主要水源：地下水（井水）和地表水（河水与湖泊水）。当雨水降落于地球表面时，就会携带和溶解大气中的气体（氧气与二氧化碳）、工业排放物如氮氧化物和硫氧化物，以及细菌和尘粒。当雨水穿过地面进入蓄水层时，经滤过而变得洁净很多，大部分微粒与有机污染物被除去。然而此时仍溶解有石灰石及其他矿物质，增加了地下水中的钙、镁、钠、铁、氯、硫酸根等离子。河与湖中的地表水则富集了由植物和冲刷地面带来的有机物和微粒。

市政水厂对水的处理有限，基本上只能保证饮用安全。大部分污染物，如盐、溶解的气体以及来源于自然界的有机物，依然滞留于市政供水中。除此以外，在处理过程中常加入氯气或其他消毒剂以控制微生物污染。这样的水质往往不能满足药厂的特殊用途，需要进一步处理。

制药用水的等级

用途不同对水纯净度的要求也不同。比如，产生蒸气的锅炉用水只需用软化水（避免形成水垢）和脱气水（避免蒸汽系统中出现腐蚀），而作为注射药物组分的水则必须达到更加严格的质量标准。美国药典（USP）中规定了几种级别制药用水的规格。药厂中常用的两种级别的水是USP纯水和注射用水（WFI）。顾名思义，WFI用于制备注射剂，USP纯水用于生产片剂、胶囊、乳剂、洗剂等。因为在官方认可的标准如USP中特别规定了上述用水的质量，所以这类水又被称为“法定水”。许多公司使用多种“非法定”水来满足特殊需要。设计设备时，确定适合不同用途的水的级别尤为重要。因为法定水的加工步骤繁琐，而且需要进行大量的验证与测试，所以相当昂贵，因此应谨慎使用，只限在药品成分用水、直接接触产品的或者用于关键工艺设备的最后淋洗使用。对大部分其他用途，可以在不违背法规的情况下，使用各种非法定级别水（饮用水、软化水、去离子水等）。很多公司安装能容易地制备满足USP规格的水系统，但又不标明是USP纯水，以避免因遵守法规而造成的不必要的花费。

现行版本USP[1]对USP纯水的要求如下：

- 纯水由符合联邦法规的饮用水制备；
- 纯水不含添加物；
- 纯水由适当的工艺制得；
- 电导率不超过设定的标准（25℃时1.3μS/cm）；
- 有机碳总量（TOC）不超过设定的标准（500ppb）。

对注射用水的要求如下：

- 应符合纯水的全部要求；
- 由蒸馏或反渗透（RO）工艺制得；
- 内毒素含量小于0.25USP单位/mL；
- 使用将微生物生长降至最低的适当的制备方法制得。

USP并未在官方专论中指定允许的微生物浓度，但是建议控制在100CFU/mL（每毫升100个微生物菌落数）以内，注射用水控制在0.1CFU/mL以内。

撇开水的来源与处理工艺不谈，对纯水的质量要求归纳如下：

（1）低电导率（高电阻率）。本试验项目旨在表明水含有极少的离子，比如钙、镁、钠、铁、氯、硫酸根等。纯水内在的氢与羟基离子决定了纯水电导率的理论限度：在pH为7.0时，约为0.05μS/cm（电阻18MΩ·cm）。根据pH与温度的不同，实际USP指定限度为1～5μS/cm。

（2）低有机碳总量（TOC）（低于500ppb）。水中有机化合物含量应该极少。控制这些化合物的原因如下：有机物可能有毒，和（或）作为微生物的营养源。

（3）低微生物数量。水应含有最少的活性微生物，包括孢子。

（4）低内毒素标准（仅为注射用水要求）。此处的“内毒素”是指注射进入实验动物的血液中会引起有害作用的有机化合物，这些化合物是由微生物生长或微生物破坏产生的脂多糖。

水净化系统

天然的水中含有各种污染物，有许多加工工艺用于除去这些污染物。典型的药用水纯化系统含有去除各种污染物的单元操作。

1. 去除微粒

市政水厂的澄清方法是根据重力作用去除悬浮于水中的大部分大颗粒。但是还有一些悬浮物依然留在饮用水中。净化为药用水时，要去除这些悬浮物。

最常用的方法是通过沙床或充满类似物质的垂直容器

进行深度过滤，让水从顶部流入从底部流出。用不同粒径的二层或更多层的微粒介质进行过滤会有更好的效果。将粗的、低密度物质，如无烟煤，放在床的顶部，将细的、高密度的沙粒放在底部。这种多介质过滤器能够去除大部分粒径大于10～20μm的微粒。周期性地反冲（从底到顶）和增加流速可以反洗滤床。反冲时，捕获的微粒会被去除并且排出，但是较重的滤床粒子依然留在容器中，在冲洗结束时回位。

在较小的水净化系统中，我们经常会发现一种用于去除微粒的筒型深层过滤器。这种滤筒由纤维素、棉花或聚合物纤维制成，用于捕获污染微粒。一旦达到滤筒的处理容量，需要卸下并更换新筒。

2. 吸附溶解的有机物和氯

在药用水净化系统中，常用活性炭过滤器去除饮用水中的氯及许多溶解性有机物。物理学上，活性炭过滤器非常像多介质过滤器，在垂直的储罐边上均有阀管。主要的区别在于滤床由表面积非常大的活性炭粒子组成。活性炭粒子可以吸附并保留数量惊人的有机污染物与氯。其最大的缺点是在没有氯（氯在滤床的上部被吸收）但营养充足的环境下易滋生细菌。因此需要定期对活性炭过滤器进行热水消毒以防止微生物的生长。滤床也需要经常反洗以去除捕获的微粒。但是，活性炭过滤器无法经济地回收利用，一旦达到了其吸附能力的限度（往往是1～5年），就要更换新炭。建议使用酸洗过的活性炭来净化水，因为木炭中残留的矿物质会使金属氧化物释出，从而增加水的硬度[2]。

3. 离子交换

离子交换过程是基于某些合成树脂选择性地吸附阳离子或阴离子，并且依赖于相对活性释放（交换）其他离子的能力。水经过垂直容器的树脂粒床（又与多层过滤器非常相似）时发生离子交换。一旦树脂床内所有的活性基团都被新离子饱和需要再生树脂时，可用合适的化学溶液通过树脂床。

最常用的离子交换系统是水软化装置，其主要功能是去除硬水中的钙、镁离子。这些成分在茶壶中会形成难以去除的垢，对锅炉、蒸馏釜和膜过滤装置也一样。聚苯乙烯树脂对于钙、镁等多价离子的亲和力大于对单价的钠离子的亲和力。当水流过树脂床时，钙、镁离子被捕获，新树脂上的钠离子被交换下来。一旦树脂交换力耗尽，用10%氯化钠溶液即可使其再生。溶液中高浓度的钠离子会改变吸附-解吸平衡，取代被树脂捕获的多价离子。再生可以重复多次，软化装置中的树脂可以使用很多年。软化只需要用盐来再生树脂，是简单而且廉价的方法。软化不仅广泛用于高纯水系统，还用于许多公用水系统。

去离子装置中也有类似过程发生，用以去除水中几乎所有外来离子。去离子装置使用两种树脂：一种用氢离子（H^+）交换钠离子、钙离子、镁离子等阳离子；另一种用氢氧根（OH^-）交换氯离子、硫酸根、碳酸氢根等阴离子。虽然离子交换可以生产出质量非常高的水，但是最大的缺点是再生树脂需要化学品：阳离子树脂用强酸再生，阴离子树脂用强碱溶液。另一个对于药用水系统来说很重要的缺点是离子交换树脂会成为微生物滋生的场所。较小的系统一般用服务型的离子交换设备，用过的树脂可以取出来再生。而较大的系统只能在原位再生，那就需要用浓的酸和碱来处理，并中和废液。一种相对较新的方法逐渐在这个领域得到推广，即连续使用去离子系统，此系统结合了离子交换与膜分离技术。在处理水时利用电流连续再生离子交换树脂，免去使用强的化学品。

4. 膜过滤

深层过滤器中微粒在通过过滤器容器时被捕获，与此不同，膜过滤器是表面型过滤器，可以阻止大于高分子膜上游表面小孔直径的微粒通过。显然这种过滤器的过滤容量非常有限：一旦大部分孔被微粒堵塞，过滤过程就无法继续了。为了克服这个内在的缺陷，工程师发明了一种称为“横向流”或“切向流”的过滤器。该系统中（图1），液体与膜平行高速流动，只有小部分液体在压差的作用下通过膜。无法穿过膜的微粒或分子被平行流清除，以“浓水”流的形式排出，“浓水”流中所含微粒的浓度大于供给流。穿过膜的流称为“渗透”。由于切向流的“清除”作用，膜的孔不会被堵塞，因此该系统能够运行很长时间。根据孔径大小，膜过滤法可以分为微量过滤法、超滤法以及反渗透法（RO）。

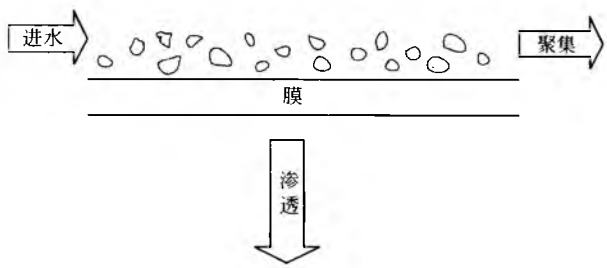


图1 切向流动过滤

微量过滤法的膜孔径为0.1～1μm，能够滤除灰尘微粒、活性炭、细小的离子交换树脂以及大部分微生物。微量过滤法所需压差小（5～20psi），有正常流（死端）和横向流两种构造。在药用水净化系统中，微量过滤法常用在活性炭过滤器、软化器及离子交换床后的一次性筒式滤器中。

超滤器所用的膜不仅能过滤固体微粒，还能过滤除溶解物外的几乎所有分子质量高的物质。这些膜的分子质量的截断点为10 000～100 000Da，可以除去细菌、内毒素、胶态污染物以及有机大分子。超滤器压差一般为10～50psi，也有正常流与横向流两种构型。在水净化系统中，超滤器有时用作离子交换单元后的净化。

反渗透的膜孔径为1～10Å，这种膜不仅可以过滤大部分有机化合物、细菌和病毒，还能除去90%～99%的离子。

由于孔径非常小，反渗透系统必须在较高的压差下（100～500psi）才能工作。事实上，所有市售反渗透系统都是横向流结构的。反渗透系统中最常用的物理膜是放在水平高压容器（经常为管状）的螺旋状结构中的（图 2）。药用净化水生产过程中，经常使用串联了两个过滤步骤的二级反渗透系统。该系统制备的水易满足 USP 纯水与注射水的要求[3]。但是欧洲的相关法规不允许将反渗透用于生产注射用水的最后处理步骤。因为美国通常的做法是制造的设备应该遵守美国与欧洲的规定，所以这也影响了美国的设备生产。在过去的 10～15 年里，无论用于最后一步水处理，还是作为蒸馏釜的预处理，反渗透都已经成为生产药用纯水最常用的方法。

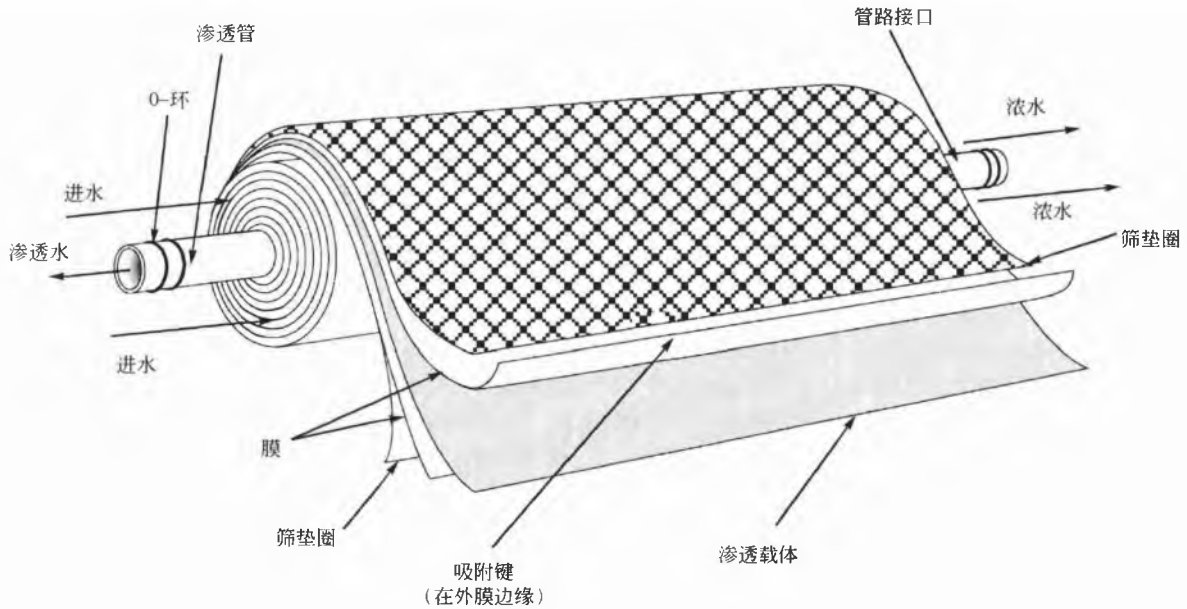


图 2 螺旋状滤膜部件（Osmonics 公司供图）

5. 蒸馏

蒸馏是水的蒸发和蒸气冷凝的过程。大部分溶解的污染物无法在水沸腾时的温度下蒸发，因此无法进入蒸气与冷凝蒸气中。为了更有效地利用能量，蒸馏通常采用能够回收蒸发水时所消耗的大部分能量的多效蒸馏釜。虽然蒸馏花费昂贵，但是可以去除几乎所有的有机与无机杂质，获得质量非常高的水，而且被认为是避免微生物与内毒素污染的最安全的方法，因此蒸馏能在注射用水生产中占有绝对优势。原水进入蒸馏釜以前常需先经过反渗透和（或）其他方法预处理，以减少水垢，提高蒸馏质量。

图 3 所示是一种合理的药用水净化系统结构。系统的前三步（多介质过滤、软化和活性炭过滤）被认为是进行最后净化的反渗透单元的预处理。反渗透之前的筒型过滤器可以避免细微的活性炭微粒进入膜。处理系统多种多样：活性炭过滤器可以置于软化器之前；也可以不用活性炭过滤器，而用还原性物质如亚硫酸钠除去氯；还经常使用紫外灯改善微生物，控制和（或）降低有机碳总量（TOC）水平等。用于生产注射用水的系统常以蒸馏釜作为最后处理步骤。

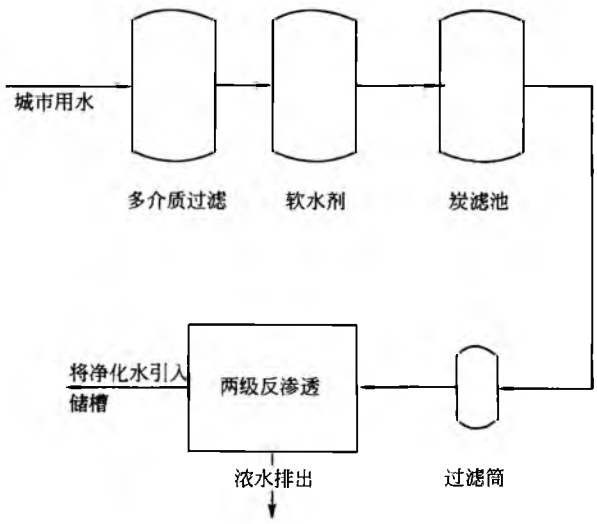


图 3 药用水净化系统

制药用水的储存与配水系统

假设由水净化系统进入储存罐中的水都符合上述的

Z

USP 纯水或注射用水的要求，设计和运行储存与配水系统的目标是保持水的纯度不变，避免前述四个参数中任一个在储存时超过限度，工程师与操作人员尤其需要注意以下几点：

- 要保护水不受离子与有机污染物污染（会分别导致电导率和 TOC 等的增加）；
- 要防止系统外来微粒与微生物的物理侵入；
- 要防止或尽量减少微生物的生长。

在描述典型储存与配水系统的结构及其组成之前，需要先了解一下微生物的生长，因为这可能是此过程中所遇到的最大的挑战，也是工程师与操作人员最关心的问题。

微生物无处不在，可以存在于各种环境中，高纯度水系统也不例外。虽然这样的水中含有的延续生命所需的营养非常少，但是依然有某些种类的细菌不仅有能力存活在这种水中，而且可繁殖。大多数该类细菌将自己附着在管道或其他系统的表面形成一层薄膜，膜中含微生物、有机和无机营养物（一部分从水中获得，一部分从死细菌中获得）以及细菌代谢和腐败的产物[4~6]。这层膜即生物被膜，形成了不同于水系统大环境的小环境，为这些细菌提供了合适的生长环境。能够在纯水系统中形成生物膜的微生物主要是革兰氏阴性菌，命名的由来是因为它们在染色后不留下染料（克里斯蒂安·格兰发明了这种染色方法）。在正常生长及降解的细胞中，这种微生物可能从细胞膜中脱落，变成内毒素的脂多糖。这就是为何必须除去水系统中的革兰氏阴性微生物的原因。同时也可以解释之前所说的为何在水系统消毒后不久即取样有时内毒素水平仍较高：成功的消毒能杀死所有或者大部分生物膜中的细菌，它们的膜碎片释放到水流中，能够被作为内毒素检出。另外需要注意的是，水系统中微生物的取样结果只是间接地与实际情况相关。第一，取样是在大量水流中进行的，而大部分细菌附着于管道与设备表面。第二，检验技术，包括清点菌落数之前用于培养样品的培养基的类型会对检验结果造成很大影响。因此 USP 没有像电导率或 TOC 那样规定水样中允许的微生物数量，在控制微生物水平时，水中的微生物数只能作为警戒或限度的间接指示。

必须要指出的是，少量的微生物存活于纯水系统中不一定影响水质。由于缺少营养和其他不利的环境，微生物在这样的水中生长很缓慢。因此操作人员可以用定期消毒的方法来控制微生物水平，只要消毒频率可以保持细菌数量在一个可接受的低水平下即可[7,8]，无需连续地消毒。

要达到上述目标，具体的工程操作可参阅 ISPE 基本药物工程指南[9]，该指南专为帮助工厂人员设计与操作纯水系统而编写。

1. 整个系统示意图

图 4 为一个典型的药用水储存与配送系统的流程图。系统包括垂直的储罐、循环泵、洁净的热交换器，由此设计成一个完整的循环的管道系统，用水点的阀门离循环管距离最短。泵使水连续不断地在储罐和配送管道中循环流动。系统中的水温保持在 65～85℃，以控制微生物的繁殖。进水中的有机体在此温度下会被杀灭或者至少不能繁殖。热交换器用于补偿管道系统的热量损失。水经过一个或多个喷淋球回到储罐中，不断地冲刷储罐的上盖壁和顶部，使这些部位维持高温。整个系统（储罐、管道及其他部分）是绝热的，以防止热量损失。为了尽量减少用水点的“盲管”（不流通的支管），通常将用水点处的循环管路设计成 U 型，将主管从天花板上面引至能方便使用的位置，再装上易用的用水点阀门。这样在系统中增加了许多弯管，并增加了体系相应的压差。若用水点阀门是自动的，可将其装在总管上以远离实际使用点，从而避免压差的影响。阀门只有在维护时才用到，但仍要注意对该支管进行清洁。

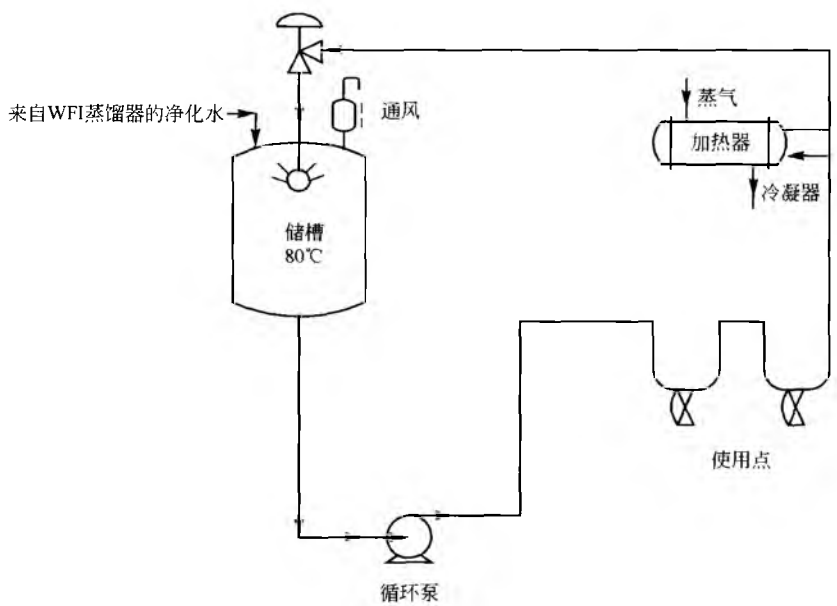


图 4 净化水储存和分布系统

储罐上通常装有无菌级别（0.2μm）的疏水性空气过滤器，有时使用氮气屏障系统，防止在正常吸入空气时引入微粒和有机体。氮气保护的另一个好处是能够在储罐顶部创造无氧环境（有利于防腐和抑菌），避免在吸入时产生轻微的低度真空。储罐上的空气过滤器通常是热的，可以避免微生物污染同时防止湿气凝结。

必须保证循环水泵的清洁，水泵可以装有一个或两个机械密封圈。后一种情况下，从泵中排出的纯水可用作密封圈冲洗液（图 5）。如果为了保险安装了备用循环泵，必须确保不会变成长的“盲管”。在不使用时排干水并关闭阀门，或者使少量热水不间断地在备用泵中循环，都可以避免长“盲管”的形成。

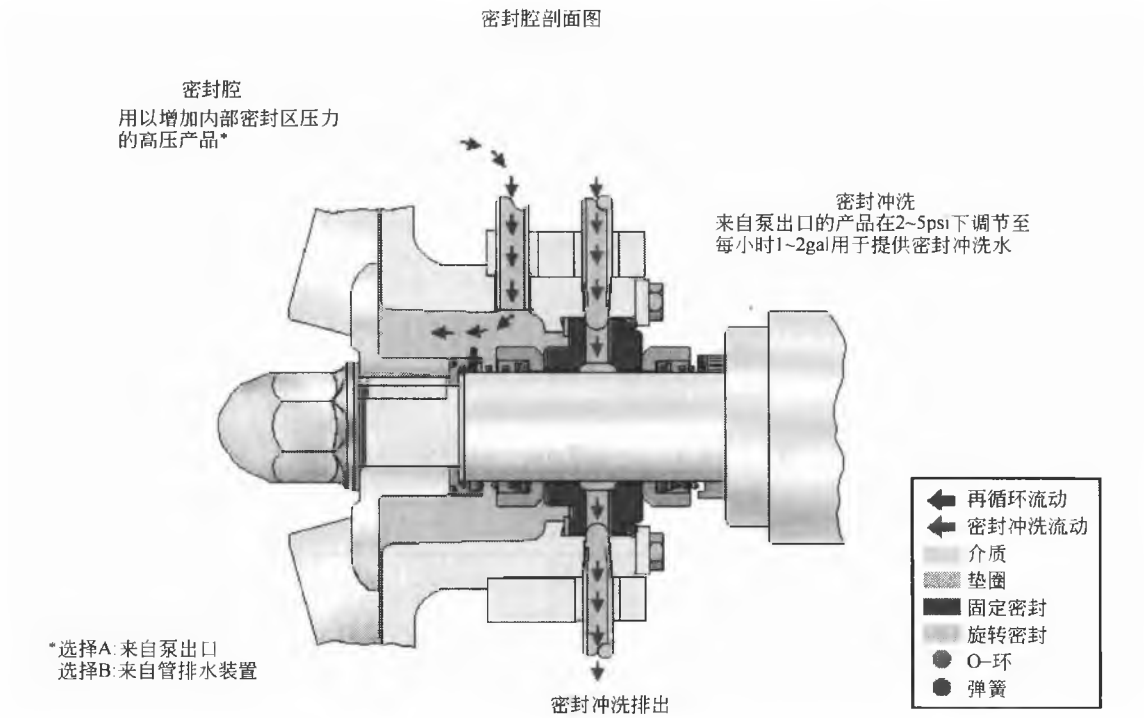


图 5 带有净化水冲洗装置的双重密封器（Fristam Pumps 公司供图）

选择循环流速时，不仅要考虑预期的使用水的速度，还要考虑不使用时需要维持的最小速度（一般为5ft/s）。一般将 5ft/s 作为产生湍流必需的最低流速，此速度产生的机械剪切力能够防止生物膜积聚。然而此观点并未得到实验结果或流体动力学分析的支持[10,11]。首先形成湍流的速度可以远低于 5ft/s，其次即使形成了湍流，在靠近管壁呈现层流的地方仍可形成液体薄膜。虽然膜的厚度与流速有关，但肯定比细菌体积大得多。然而说循环速度无关紧要也是不正确的。因为选择流速时不仅要根据管道水力学，还要考虑其对系统各点水温维持的影响，包括“盲管”。“盲管”越长，维持水温所需的湍流速度越大。

虽然类似于图 4 的热水储存和配水系统在控制微生物方面非常有效，但是其主要缺点是水输送给所有用户时温度过高（65～85℃）。这是部分或所有用户所不能接受的。其他缺点包括热水体系对结构材料的腐蚀，以及高水温对人员安全的威胁。研究人员已提出多种设计为用户提供所需水温（通常为室温）的纯水[12]。图 6 和图 7 是其中的两种。第一种情况（图 6），水直接在用水点被局部冷却器冷却；第二种情况（图 7），建立单独的室温循环管路，由中央冷却器满足多用户的需求。在不用水的时候，图 7 系统中的冷却器几乎不工作（补偿由泵产生的热量）。然而一旦一个用水点的阀门打开，室温的水就开始流出管道，储罐中的热水流入补充。此时冷却器需要除去大量的热以保持设定的循环水温，这通常需要一个很大的、清洁的换热器以及大量冷水。从实际角度出发，最好能串联地安装两个换热器，第一个用冷却塔水除去大部分热量，第二个（辅助冷却器）用较为昂贵的冷冻水使循环达到需要的温度（通常为 20～25℃）。必须指出的是，该系统无法时刻维持精确的循环温度。每次开关主要用水点阀门时，都会造成纯水温度有几度波动，这是由控制系统设计上固有的延迟造成的。这一般不是问题，尤其是生产容器灌装工艺用水时。室温循环（图 7）中的加热器用于定期管道消毒，其他时间蒸气是关闭的。

第三种方法是使用类似图 4 中的系统，但保持储罐和循环回路中的水温大部分时间与环境温度相同（需要使用额外的夹套内通冷水的换热器）。为了控制微生物，该系统（或任何有室温循环回路的系统）需要定期消毒。将系统加热至约 80℃，至少 1h。消毒次数可以一天一次，也可以一周一次，甚至更少。但是次数越少，越需要留意控制微生物的效果。

Z

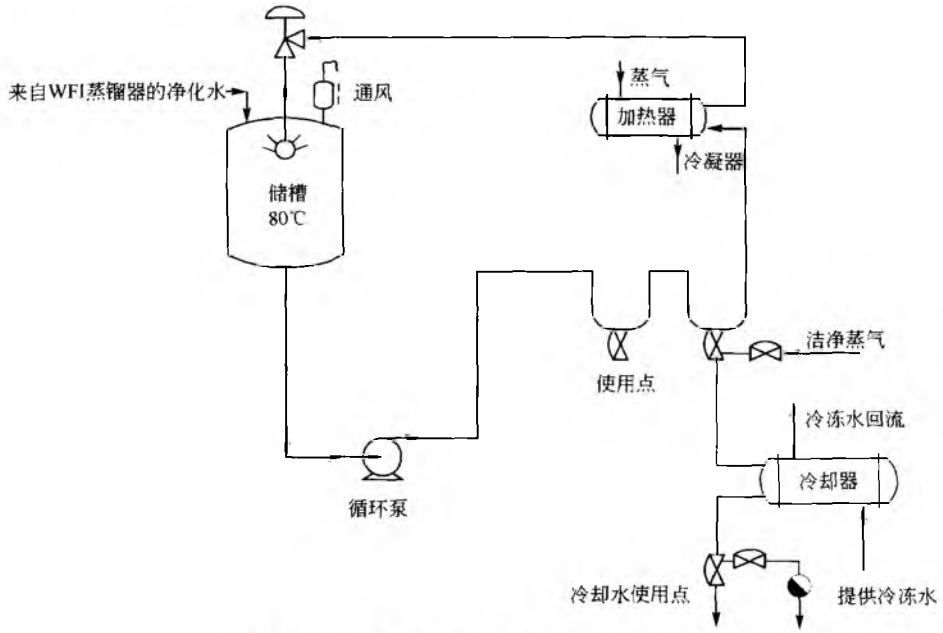


图 6 带有使用点冷却器的纯水储存和分布系统

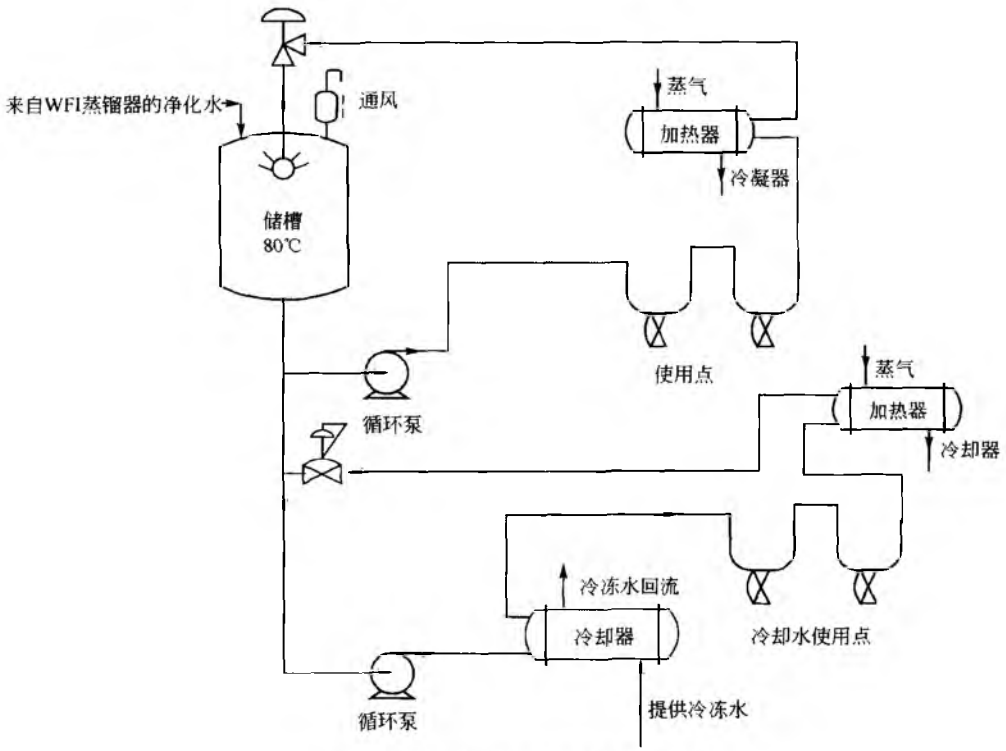


图 7 带有室温循环的纯水储存和分布系统

另一种在室温系统中控制微生物的方法是使用臭氧作为消毒剂，即臭氧（在压缩空气或氧气中原位产生）持续地被注入纯水储罐中。安装紫外灯在循环泵的出口处，以分解直接运往使用点的水中的臭氧。紫外灯需要定期关闭30min至1h，使经过臭氧处理的水能够在配水管道内循环，从而消毒。

在较大型系统中，所有用水点使用同一根大直径的管道回路是不切实际的，此时可用各种多回路装置[13]。

特殊系统的设计需要考虑许多因素：室温水和热水的用水点数量、流速和使用频率、资金到位情况等[14]。

2. 结构材料

系统与纯水接触的储罐、管道、泵及其他部件应该能耐水腐蚀，不引入金属离子或其他污染物。最常用的材料是316L不锈钢。后缀“L”是等级名称，表示“低碳”。低碳对于需要焊接的部件来说很重要，因为焊接时，碳分子会扩散至表面，导致焊接区域易被腐蚀。纯水管道通常使用这种清洁的管材。这种产品较一般管子的尺寸误差要求更严格，需要进行不同程度的表面加工，甚至可以由机械和电抛加工得到镜表面。用作管道的通常要抛光到平均粗糙度（RA）为25～30μin或更小[15]。

管道及其他部件（阀门、弯头、T形接头等）大部分由自动轨道焊机焊接。这种机器工作时会在焊电极与管材间形成焊弧，通过熔化管材末段进行接合。和常规的焊接方式不同，这种技术能形成非常平滑的焊缝，只含有接合管材的材料，不含焊电极的金属成分。为避免焊接区域的过度氧化，焊接过程需要使用惰性气体如氩来保护。自动焊接机不仅能够减少手工作业，还能保证所有焊接的质量一致，以及影响质量的参数（电流、电极速度、保护气流等）的一致性。当不能使用自动焊接时，比如制作无静电阀门，才考虑人工焊接。但是最好不要在工地上操作，而应该在受控车间内进行。洁净管的焊接情况常用管道探测镜检查。

为了改善不锈钢元件的耐腐蚀性（尤其是在焊接区域），最常用的方法是用强氧化溶液（比如硝酸或柠檬酸或螯合剂）进行循环，从而钝化产品与安装管道和设备的接触面。钝化可以除去金属表面的游离铁，形成三氧化二铬保护薄层。可以定期地进行钝化处理（每隔几年），恢复钝化层。

近些年一些系统使用塑料代替不锈钢来做材料。最常用的是聚偏二氟乙烯（PVDF），它是部分氟化的高聚物，其许多性质和完全氟化的聚四氟乙烯的理想特性（机械强度和耐化学性）相同，而且价格便宜，更适合于管道系统。在合理的设计与维护下，PVDF管道能够使用热水甚至低压蒸气消毒，并且可以定期使用臭氧。虽然PVDF的管道与不锈钢管道价格相差无几，并且需要经常维护，但是却有很多优点，如重量轻、易焊接、阀门与配件较便宜，而且无需钝化。相对于不锈钢系统来说，这些优点降低了使用PVDF系统的总成本。由于担心从塑料中浸出有机杂质，研究人员与清洁级PVDF管的供应商对此进行了广泛研究，证明从这种管子中浸出至水中的TOC非常少，不会降低水质[16,17]。公平地说，尽管没有哪种材料能被视为纯水体系的理想材料，但PVDF等塑料已经对不锈钢形成了强有力的竞争[18]。

3. 管道设计与安装

在设计与安装纯水系统时，必须注意避免形成水滞留的区域（即“盲管”）。需要分支的地方，如用水点、仪器口等处，应将“盲管”的长度（从主管量起）限制在分支管道直径的三倍。这一“经验法则”在应用中非常重要，因为定期或连续清洁管道系统时，整个系统包括最远的地方，都必须达到所要求的温度，或者在化学消毒时，消毒剂必须到达所有区域。假如长“盲管”无法避免（比如在一些已有的系统或较小的新系统中），可以用热水或化学溶液冲洗所有“盲管”来控制微生物，作为消毒过程的一部分。管子通常应向最近的排水点倾斜至少1/8in/ft（英寸/英尺），或大约1∶100，以确保排水彻底。切记，清洁系统中的薄壁管在支撑点之间可能下垂，这样会使水平流动的液体在此处形成无法排去的积水。从技术上来说，只有进行蒸气消毒时才需要有此倾斜（只有完全排干冷凝水，才能均匀加热所有管道表面）。但是这已经成为常用的方法，几乎没有看到哪一家药厂的纯水系统管子是不倾斜的。大部分管道及其余系统部件都是焊接的，个别可能需要拆卸的部件（泵、换热器、仪器等）用清洁的连接器相连接，如三通、锥形连接固定架（Swagelock TS）等。这些连接器共同的特点是垫圈能够适应管壁的冲洗，接头无接缝。隔膜阀因其清洁性、无接缝及将潮湿部分完全与传动装置隔离，而成为纯水等绝大部分清洁系统的必要组成部分。两种使用范围最广的阀分别是溢流坝阀（weir）和放射状隔膜阀。除简易阀门（一进口一出口）外，一些公司还提供专为各种药用或相关行业而设计的用水点及其他专用阀门，特别是纯水系统的阀门（图8和图9）。

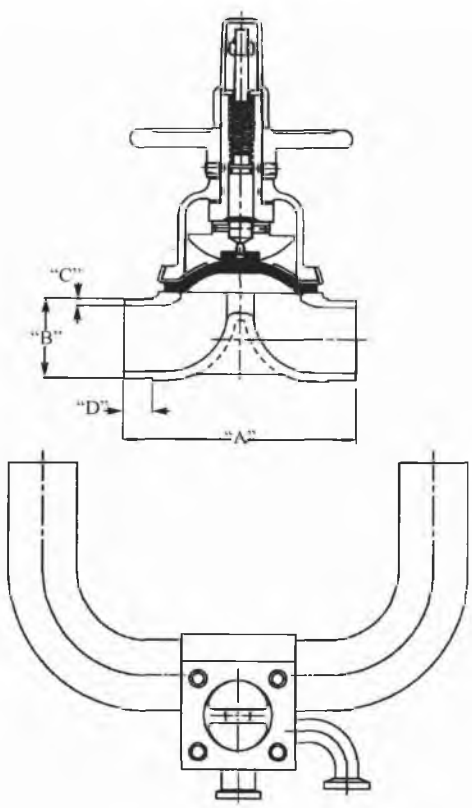


图8 溢流式隔膜阀开关和用水点结构
（ITT工业公司供图）

Z

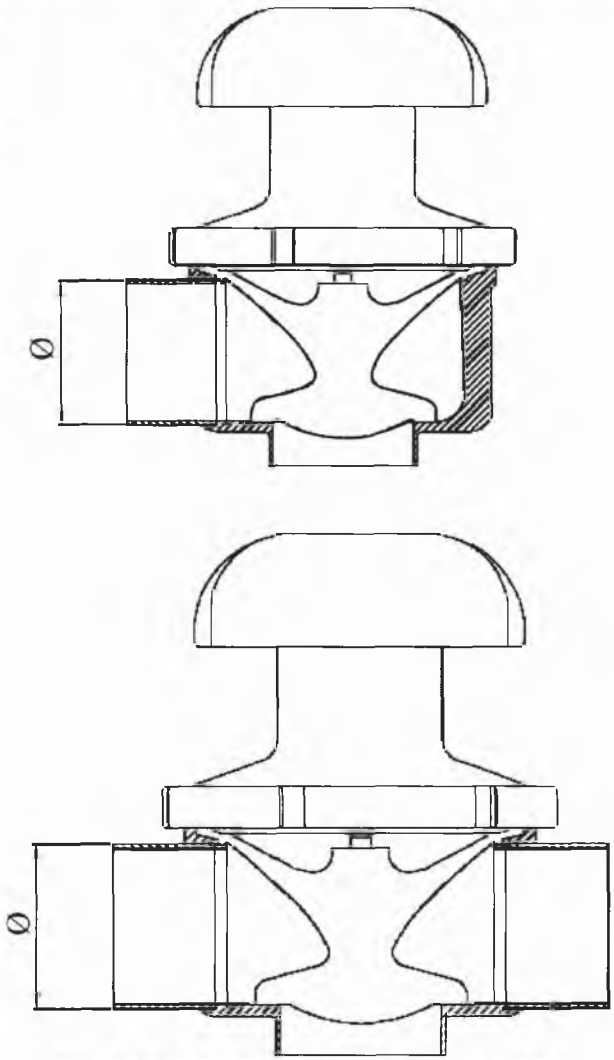


图 9 辐射状隔膜阀开关和流通结构（NovAseptic 供图）

结论

多种纯水系统可用于制药设备。虽然有其共性，但是每一种系统都是为了用户需要而特别设计的。只有对系统运行有充分的了解，并且注意到细节部分，才能有合理的设计。无论花费了多少钱，简单地遵守常规的“经验法则”并不能保证系统的可靠性。另外，对系统有了充分的理解，才有可能设计、安装、确认一个有效的、可靠的、资金投入少、运行费用低的纯水系统。

参 考 文 献

1. United States Pharmacopeia 26 National Formulary 21; US Pharmacopeia Convention Inc.: Rockville, MD, 2003.
2. Meltzer, T. Pharmaceutical Water Systems; Tall Oaks Publishing: Littleton, CO, 1997.
3. Weitnauer, A.; Comb, L. Reverse Osmosis for WFI and PW. Presented at Pharmaceutical Waters'95, Atlantic City, NJ, May 1995.
4. Schaule, G.; Flemming, H. Pathogenic microorganisms in water system biofilms. Ultrapure Water 1997, 14 (4), 21—25.
5. Gillis, R.; Gillis, J. A comparative study of bacterial attachment to high-purity water system surfaces. Ultrapure Water 1996, 13 (6), 27—32.
6. Riedewald, F. Biofilms in pharmaceutical waters. Pharm. Eng. 1997, 17 (6), 8—19.
7. Collentro, W. Microbial control in purified water systems—Case histories. Ultrapure Water 1995, 12 (3), 30—36.
8. Byrne, W. Biological Control in High-Purity Water. Presented at Ultrapure Water Expo, Philadelphia, PA, 2001.
9. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guides: Vol. 4. Water and Steam Systems; ISPE, 2001.
10. Gray, G. C. Recirculation velocities in Water For Injection distribution systems. Pharm. Eng. 1997, 17 (6), 28—33.
11. Klauer, J. An examination of pipe self-cleaning in high-purity water systems. Ultrapure Water 2001, 18 (3), 56—60.
12. Shnayder, L. Pharmaceutical purified water storage and distribution systems—An engineering prospective. Pharm. Eng. 2001, 21 (6), 66—72.
13. Dreyer, C.; Du, S.; Sommer, K.; Williams, R. Criteria, tools, and practices for high-purity water distribution systems. Ultrapure Water 2000, 17 (5), 17—28.
14. McWilliam, A. The design of high purity water distribution systems. Pharm. Eng. 1995, 15 (5), 54—70.
15. Peterman, L. Design Guidelines for WFI and Other High-Purity Water Systems. Presented at ISPE Conference on Pharmaceutical Water Systems, Amsterdam, The Netherlands, 1991.
16. Motomura, Y.; Yabe, K. Piping Materials and Distribution Systems for Advanced Ultrapure Water; Proceedings of Tenth Annual Semiconductor Pure Water Conference, Santa Clara, CA, 1991; 1—22.
17. Govaert, R.; Lueghamer, A. Thermoplastic piping systems for pharmaceutical water applications. Ultrapure Water 2001, 18 (10), 32—39.
18. Sixsmith, T.; Jackson, J. How piping materials for the pharmaceutical industry compare to each other. Ultrapure Water 1999, 16 (4), 53—59.

（徐 喆 傅 民 刘 丹 译）

Z

中试工厂的设计

Mickey L. Wells
Samuel B. Balik
Ralph B. Caricofe
Charles W. Crew
Ronald A. Sanftleben
A. Wayne Wood
GlaxoSmithKline, Inc., Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.

引言

中试工厂的设计应该支持三个主要的战略目标：

- 处方和工艺的开发；
- 临床研究样品的生产；
- 技术评价、放大和转移。

总的目标是最大化产品开发、生产速度和效率服务。这种实验工厂是临床研究样品生产和开发的“混合”设施，包括了早期开发活力、临床供给生产、技术评价、放大，以及向生产区的转移。临床供给的生产是整个开发过程中的一个完整的部分。随着临床项目要求的增加，批规模的增加，在放大生产的过程中能获得关键处方以及工艺性能的信息。这种信息和经验有利于平稳有效地生产转移。

特定的设计布局取决于一系列的因素。与在一个新地方设计一个中试工厂相比，如果现有建筑物的结构需要更新或者转换，则设计受到限制。多种技术和系统，如流化床造粒机、微波处理器、冻结干燥装置、水系统，以及粉尘捕集器，都有特定的设计要求和限制，需要特别考虑。新厂房的位置在工程的早期就应该评估，这种评估取决于位置因素（如尽量接近开发、生产、临床包装及仓库位置），及人力支持的因素［如质量保证（QA）、质量控制（QC）、验证、维护、校准、微生物学检查等其他功能］。

最后设计出来的车间应该能够满足主要战略目标，实用且维护和运行费用较低。设计院、公司工程人员及顾客的相互沟通对于一个可运作的设计及终端用户的满意是最重要的。除了建筑师和工程师外，核心的联合小组应该包括来自 QA、QC、验证、维护、校准、实验工厂运作、处方开发、信息技术、采购、环保和安全的人员。安全、通讯、采购和保险应该给工程安排能提供特殊资源需要的人员。

应该按照所提供服务的范围以及设计 GMP 厂房的经验选择设计院。建议选择能够提供建筑、工程、建设咨询，以及人身安全服务的设计公司。试验工厂是一个临床样品生产和开发的混合设施，如果缺乏合适的经验以及操作方面和法规方面的解释，很有可能在废物处理、安全和防火方面会超标准设计。访问设计院设计过的工厂用来检查过去设计的质量，以及搞清楚该公司完成合同和处理问题的好坏程度。建议在合同中包括设计公司的主要成员。有经验的设计工程师和有良好记录的职员是最重要的。

建议 FDA 早期介入审核工厂的设计，这样在工厂的设计过程中，考虑到 FDA 对 GMP 的最新解释。当设计方案被最终完成后，该方案应送当地、地区、及华盛顿 FDA 官员进行审核和修改。关于物流、人流、建筑面积、空气净洁度分级和主验证方案的讨论是将设计呈送给 FDA 并展开对话的有效途径。并建议在整个建设的各个阶段邀请当地以及地区 FDA 人员参观厂房。

战略目标

1. 处方和工艺的开发

在中试工厂所要开发的剂型和所采用的技术的战略决定会极大地影响设计[1]。这些战略上的决定常建立在当前的生产技术、剂型开发，以及潜在的给药系统需求的估计基础上，以支持未来生产线的扩大和新化合物实体（NCE）的大规模生产。为了在布局中决定分配空间，对各种技术的均衡利用以及对所期望的工艺进行评价是很重要的[2]。从研发规模到试生产规模，再到大生产规模的转移中，对关键成分、处方、工艺参数的验证和控制，对于最后的生产具有重要意义。车间和设备应该能够捕获到关键工艺信息，技术越复杂，对主要参数的控制和监测的要求就越高。另外，我们也当然希望能够对这些参数实行远程监控。

2. 临床供给生产

为了生产临床研究用样品，中试工厂的设计特征基础是符合 GMP 要求[3]。对设备和厂房的完整验证计划必须在设计基础结束之前完成。这些设计特征必须满足安全和处理化合物的环境车间的需求，关于这些化合物的潜在毒性、药效强度和理化性质，只有少量的资料。高药效的化合物需要在一个隔离的、密闭的、需要特殊设计控制的环境中进行处理和加工[4]。

临床供给生产应该被看成是产品开发过程中的一个完整部分。随着项目要求的增加，要求通过提高生产能力以满足增加的临床试验的要求。在临床批生产的放大中，可

以获得关键的处方和工艺性能信息。药物原料经常会短缺，因此对于放样的处方研究人员来讲，第一个机会就是应临床供应需求进行。

评价生活质量和其他医学成果标准的药物-经济学研究需要成千上万的患者和数百万的剂量单位。这种大批量的要求可以生产也可以外包给合同资源组织（CRO）。另外，一定程度的控制和灵活性的放弃，有可能减慢临床项目。如果对这种具有大规模生产能力的临床生产工厂有直接的接近和控制，则允许有一定的灵活性和较短的转移时间来满足临床需求。在工厂的设计中，建立在临床需求上的关于生产能力的战略决定能够很大地影响空间和设备能力[1]。表1说明了基于典型的单位质量的批规模和生产能力，用于确定设计目标。

表1 基于典型的单位质量的最大批生产能力

技 术	批产量/kg	每批剂量数
固体，500mg/剂量	200	400 000
	20	40 000
	5	10 000
半固体，50g/剂量	500	10 000
	100	2 000
	10	200
液体，100mL/剂量	1000	10 000
	100	2 000
	10	100
注射剂，10mL/剂量	250	25 000
	50	5 000
	10	500
气雾剂，20g/剂量	250	25 000
	100	5 000
	10	500

3. 技术评估、放大和转移

工厂采用弹性设计能够较好地适应新技术的评估。这种技术对于公司有可能是新的，对于业界也可能是创新的，并且能够提供目前的生产和实验工厂所缺乏的优点。新的技术可能提高生产速度，提供连续的工艺，并降低维护、放大、清洁和防止污染的成本。新技术可以包括新的给药系统或工艺的评估。无论怎样，一个灵活的实验工厂的设计（效用和空间）给开发人员和技术操作人员提供了在技术评估中合作的机会[5]。

关键的处方和工艺性能的数据也可以在实验工厂中获得[6]。随着临床供给数量需求的增加以及更大批量的需求，操作可以放大到具有相同或者类似操作原理的更大的设备中进行。这就有可能确认主要的工艺变量和范围，并研究放大效应。图1为流化床制粒-干燥设备，图2是不同大小的包衣锅。就设计和规模来讲，试验工厂的设备与生产设备越相似，在工艺向生产转化的过程中就需要越少的试验次数，尤其是价格比较昂贵的药物。在中试工厂中，大规模的设备至少要利用10%的生产能力，理想上应接近设备生产能力的25%～100%。

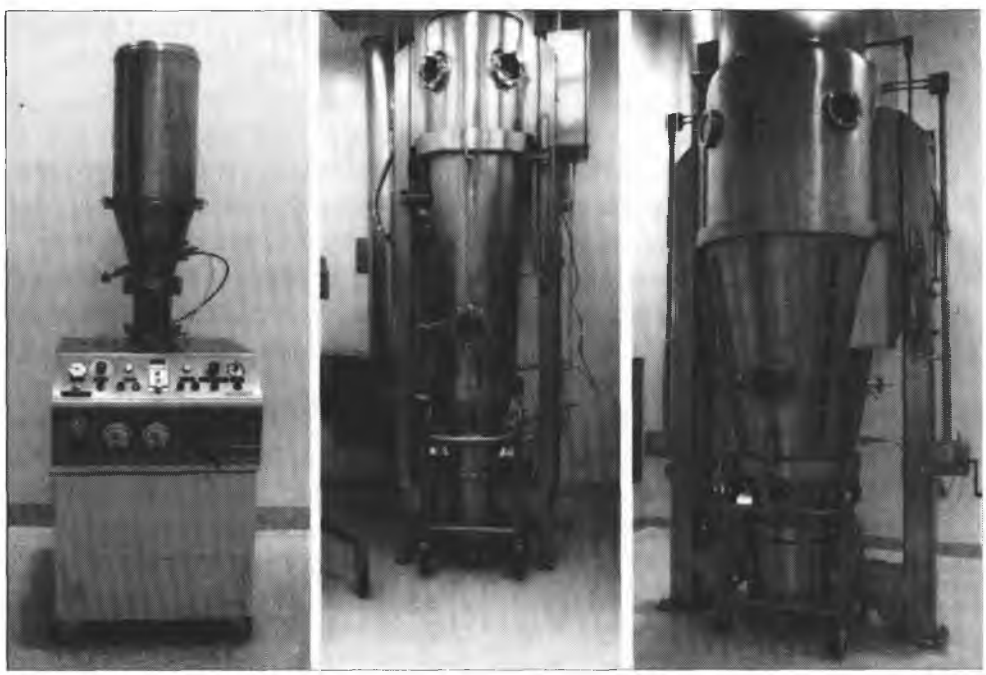


图1 1kg、5kg和50kg容量的流化床制粒干燥机，能提供灵活的临床供应生产能力，可以用来确定关键的工艺变量和放样参数



图 2 1kg、15kg 和 150kg 容量的包衣锅

通常联合应用工程模型、统计学设计的实验，以及回归模型确定生产工艺中的工艺参数和范围，以确保合理地控制大规模工艺[7]。这种放样经验增加了对产品和工艺规模参数的理解。这些数据有利于平稳的生产转移，并且提供了较强的科学合理性，并引出了可靠的新药申请（NDA）和 FDA 正式批准前的检查（PAI）。

设计和符合 GMP 要求的考虑

1. 布局

在工厂的设计和布局中，一定要考虑对 GMP 的影响。布局应该满足灵活性，并控制进入、人流和物流等的需要。

产品的开发是在许多不确定中开始的，最后，通过合理设计的开发程序，产品得到增值。由于这些不确定的因素，我们很难准确地预测将需要什么样的物理设施，因此这就需要在设计中加入尽可能多的灵活性。这种所希望的灵活性可以通过多种方法实现。例如尽可能少用固定的工艺设备，而只要有可能就采用可移动的设备。宽走廊和 10ft（3m）高的门可以很容易移动设备。此外，工艺房间可以设计成多用途的，从而增加灵活性。这种多用途工艺房间的概念决定了所希望的使用灵活性的程度，比如说动力供给的范围，以及包括粉尘捕集、真空清洁、水，静电接地和压缩空气等工厂系统。

限制进入和人流影响布局。车间的规模和所预计的正常的每天人员数量决定了休息室、更衣、橱柜、淋浴空间的大小。应该指定在试验工厂里人员所穿的衣服的类型，并且提供给他们清洗、处理和存储。更衣的程序应该加以研究并正规化。

原材料的接受、取样以及隔离过程应该进行仔细计划。用于生产临床供应样品的材料和组分应该通过一个控制接近的区域进入车间。取样和隔离程序影响车间的布局和设计。对于那些强效（高活性）化合物应该有专门的防范措施，这就要求使用特殊设计的具有空气锁、更衣区域和隔离取样的房间。传输和运送人员应该限制进入接受和停留区域。接收人员办公室应该紧挨着实际接收区域。运输人员的休息室、电话和坐椅要进行另外的设计。若使用铲车，还需要洁净区域有一定高度和宽度。电池式铲车需要有给设备充电的空间，还要评价通风要求。易燃溶剂的接受、取样以及隔离储存需要特殊考虑，如场所、防爆照明和电路等。溶剂的处置操作和污染排出程序也是很重要的参数。需要一定的空间来临时存放易燃的废物及其他废弃物。

仓库的规划取决于生产规模、产品类型及储存要求。应确定温度及相对湿度的设定点和范围，以及特殊的储存条件，如冷藏、冷冻、控制进入等。存储的容量和空间的限制可以决定货架的高密度及货盘的高度。在车间内部存储是最好的，但其他场所的存储对于中期和长期的供应，或大量采购将是一个更节约的选择。存储物品的标识、状态，以及铲车大小的选择，决定了接受、运送方式和仓库面积的容量和设计。那些满足 GMP 标识和状态要求的系统，不需要在同一位置存储同一状态的物料，能够最大限度地利用空间。

图 3 是一个限制人员进入的试验工厂的规划。这种设计将支持一些固体制剂、液体制剂、半固体制剂、气雾剂和无菌制剂产品的开发和临床生产。每个区域均设多用途的房间，可以最大化利用可移动的设备，采用与表 1 类似的放样因子。在生产区域内标识了隔离房间，后面会详细讨论这样做的目的和设计方案。无菌区域通过设计内部过道而与主过道隔离开来。在最左侧，如果需要的话，主过道为以后车间的扩展提供入口。

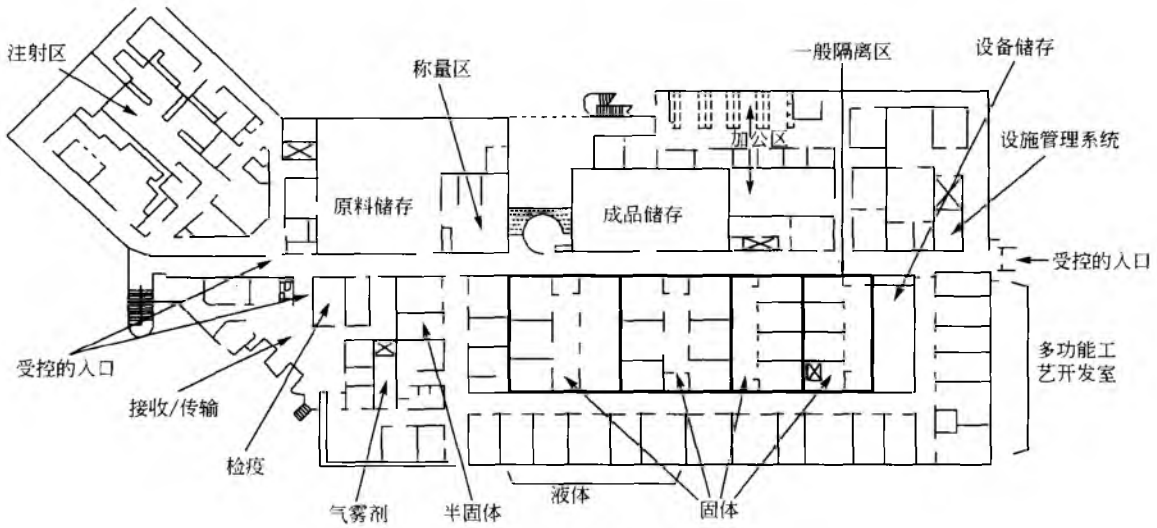


图 3 一个中试工厂的布局

2. 建设

作为一个多用途、生产多品种的车间，其墙壁、天花板和地板应该使用表面易清洁的材料建成。墙壁、天花板和地板的连接处应该易清洁和冲洗。家具应该建成无孔的，并且顶部倾斜，这样可以减少灰尘的聚集，并且有助于清洁。

表 2 列出了许多可用的、能获得的建造墙壁、天花板的材料，以及它们购买和安装的费用，及相对的易清洁度、牢度、弹性和易维修的程度。窗框、门框及地板与墙壁之间的连接处建造时应该小心，以防止湿气的破坏，提高易清扫度。用树脂喷涂的干墙玻璃纤维衬边可以提供一个易清洁的表面，并且价格比其他的选择相对要低些。

表 2 天花板的墙壁材料[1)]

材 料	采购和安装费用	易清洁性	耐久性	弹性	易维修性
干墙涂树脂	□	□	■	■	□
干墙，玻璃纤维和树脂	□	□	◩	◩	◩
乙烯树脂	◩	◩	□	◩	■
Stelvatite	■	□	□	□	■
石和树脂	□	■	□	■	◩
石、石膏和树脂	◩	□	□	■	◩

1) 标记：□更好；◩中等；■更差。

地板的选择标准应该包括：能抵抗化学腐蚀、抗污、抗磨损和粘连、能弯曲、美观、易保养和维修。表 3 列出了建造地板的一些材料和选择标准。特殊的区域为了减少易燃物质的爆炸的可能性，需要能中和静电或者具有导电性质的地板。

表 3 地板材料[1)]

材 料	采购和安装费用	易清洁性	耐用性	弹性	易维修性	不易脏	耐化学品
混凝土（封闭）	□	□	◩	■	□	◩	◩
环氧树脂水磨石	■	□	□	■	■	□	□
地 砖	■	◩	◩	■	■	□	◩
混凝土涂环氧树脂	◩	◩	◩	◩	◩	■	■
乙烯树脂片	◩	■	■	□	◩	■	◩

1) 标记：□更好；◩中等；■更差。

最好采用金属或者强化玻璃纤维门和门框。在弓形顶篷基部上端的门框要求易清洁。对于双扇门，最好采用从上面将一扇锁住，因为这样就避免了地板的钻孔和清洁上的问题。门锁应该容易清洁。

灯的底座应该是可洗的，并且维修应简单。灯框封在天花板的表面以防止湿气的侵入以及微生物的滋生。在设计中应注明工艺区域的照明水平。过道里的开关或自动开关应便于清洗，不必要使用昂贵的防爆装置。

应该考虑到地面排水的需要，以及收集废水进行处理或者焚烧的能力。如果地面安装了排水装置，则地面应在所有方向上向出水口倾斜。对地漏盖的材质应进行质量、卫生以及清洁的评估。图 4 是一间多功能的房间，它具有容易清洁的地面、用树脂喷涂的干墙及干墙玻璃纤维衬边、地漏和公用操作面板，这个房间还具有自身的热水或者冷水清洗能力。



图 4 一间多功能的房间，具有容易清洁的水磨石地面、用树脂喷涂的干墙及干墙玻璃纤维衬边、地漏和公用操作面板，这个房间还具有自身的热水或者冷水清洗能力

3. 建筑系统和公用设施

下述的建筑系统和公用设施应该在设计阶段就说明：HVAC（取暖、通风和空调）、制药用水系统、压缩空气（氮气、空气、呼吸空气）、不同电压值的电源插座、粉尘捕集、真空清洁、通讯系统、紧急备用发电、环境监控，以及温度、相对湿度不同压力的控制装置。实验工厂设计中所包括的这些系统和公用设施的选择取决于所生产的制剂产品（如是口服固体制剂还是无菌制剂），以及所选择的技术[8,9]。

试验工厂的 HVAC 系统必须能够连续生产一种合格的产品，并且有足够的灵活性容纳不同的生产区域和剂型。虽然不是有意设计成普遍适用的系统，但在中试工厂里为生产区域已经建立了典型的 HVAC 要求[10]。不同的工艺区域应该包括干燥、配液、灭菌工艺等生产区域，通用药物供应区域，以及包括 QC 和检查的实验室。其他 HVAC 设计考虑还包括控制区域内的噪声水平，传感器和控制器的再校正之前可以允许的漂移，空气污染的可接受水平，以及维护。

如果在制药试验工厂里使用的最关键的公用设施是那些与产品直接接触的，那么，水最有可能是排在第一位的。水通常用于生产产品，也用于清洁设备和生产区域。水的质量可以划分为两个等级。

第一类是法定的，有两种类型，USP 纯水和注射用 USP 水。有好多不同的方法设计法定的水系统。这些系统一般是管理和维护最困难的公用建筑之一。需求量和用水点的关键评估决定了系统的规模。较小的系统比较容易管理和维护，用水点应尽可能少。应评估原水的质量以确保水处理能够应付季节的变化。关于法定用水和洁净蒸气的设计、建造和运行，有非常好的资源可以获得[11]。

第二类的水是非法定要求的，通常指的是饮用水，一般常用于设备和工艺房间的最初清洗。这种水应该满足公共健康服务饮用水标准[10]。非法定要求水也用于实验室，按最后的处理步骤称为反渗（RO）水和去离子（DI）水。

应该考虑压缩空气的供应，如氮气。在有易爆粉尘或溶剂存在时，氮气可以作为一种惰性气体进行覆盖，另外也可以作为流化空气微粉化的能量来源。压缩空气经常用在防爆环境中来操作气压开关，以及作为混合器的能量来源。加工高活性化合物时可能需要呼吸空气。压缩空气和呼吸空气中应不含油和其他的一些污染物，符合严格的微粒要求。在生产时要特别考虑用气管道，以控制微粒，例如在惰性空气里进行焊接。起泡点过滤器也可以用其他工艺用气体，如氮气、二氧化碳等[10]。呼吸罩应置于使用者容易接近的地方。这个系统可以采用“快断”的设计方式，就是每一种压缩空气采用不同的颜色键控，以防止不慎或不适当的使用。

粉尘捕集器和真空清洁设施的清洗和服务需要特别的重视。处理高活性化合物时，应设计有呼吸空气、除污染淋浴，和具有废水预处理阀的地面排水装置的隔离的“袋子房子”。

建筑的监控系统根据所希望的控制的程度的不同可以简单，也可以复杂。最简单的可以用来监控温度和相对湿度。其他需要监控的系统包括溶剂处理区的排出管道的低爆限度、房间压差、高效粒子过滤器的压差、USP-WFI 水系统的电导率、检漏的压缩空气-氮气压力、使用氮气房间的氧气、冷冻水和洁净蒸汽的压力、同步时钟、注射区域环境颗粒等。图 5 是一个用来检测和存档的主要环境和公用系统参数的系统。该系统能常规监测关键的仪器警报，连续提供工厂内外环境的最新数据。还能识别特殊工艺房间的号码、温度、相对湿度、压差情况。这些数据可以存档，在 FDA 检查时可以查阅。用户报告可以将数据进行编排以便于查阅。



无菌区监控

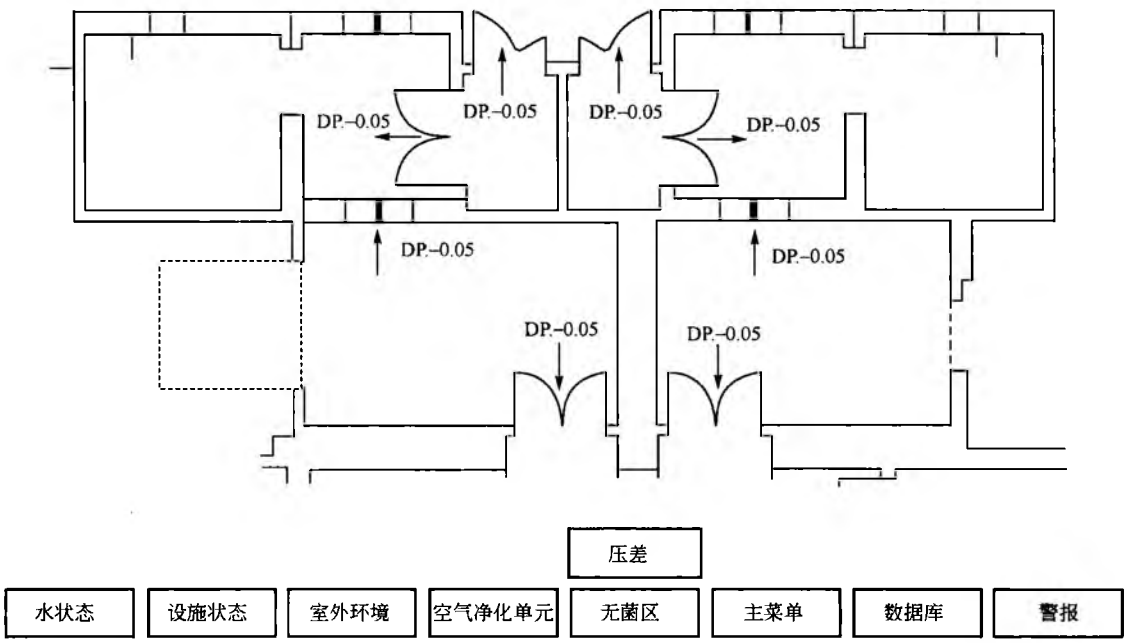


图 5 车间监控室（上图）和无菌区压差的操作员屏幕界面（下图）。通过控制室触摸屏可以监测无菌区和非无菌区的水、公用系统、外部环境、空气处理单元、工艺区域的参数

公用系统的服务是一个很重要的设计因素。日常的校对、维护以及维修是维护 GMP 工厂的一个不可分割的部分。另外，还包括储备重要零备件和供给的区域。

4. 设备

设备可以分为固定设备和轻便设备，两种设备都应该易清洗和保养。固定设备对建筑的设计具有最大的影响。特殊的一些考虑因素如防爆、卸爆、抑爆，以及不间断供电在设计的初期就应该确定。对于流化床制粒干燥机和片剂包衣机还需要专门的工艺空气处理设备。现场清洁系统（CIP）需要特别重视。可移动设备的存放、操作支持和零备件很重要。可移动设备的存放区域的安排应该合理，以补足人流和物流计划。

安全和环境因素

1. 紧急事件

紧急通讯告知系统、电话、烟雾和气体探测器，及喷淋系统需要符合州和公司防火紧急事件法案，以及保险人

的要求[12]。特殊的工艺或技术可能需要一个润湿的或预先洒水的喷水系统。地方法规、公司标准或者场地的要求决定了选择特定的类型。另外需要考虑区域内进行的生产工艺。在多功能车间内，关键处应该用一个“最坏”的方案进行标识。应该在无菌产品区域内预安装作用（干燥管道）系统，因为这些区域内，偶然的泄漏会导致微生物的污染和区域停工。系统排水装置很重要，而且，对于管道内意外的空气压力过低要建立排水程序。另一个防火措施（如放火建筑）就不需要洒水装置了[13]。工艺房间的窗户和走道的安排要使操作者从不同的有利位置都可以进行观察。可以使用安全玻璃以符合防火的法规。可以使用电话和对讲装置加强操作者之间、员工和管理者之间的联系。通讯系统的选择应该基于使用方便和容易清洗的考虑。

应设计紧急告知系统以引起那些穿有防噪声或者呼吸空气服装的操作人员的注意。可视闪光灯和高声警笛对讲通信系统为简单但有效的设备，引起在紧急位置的员工的注意。当紧急警报启动时，紧急出口应有一定的压力[12]。“Man-down”型的紧急系统也值得考虑。

2. 环境排放物

试验工厂的环境排放必须遵守当地、州和联邦的规定，尤其是使用有机溶剂进行制粒或包衣的设备要特别考虑。从焚烧炉、洗涤器和粉尘捕集装置排发的气体要经过州政府的许可，并符合联邦的洁净空气法案[14]。对于危险的废弃物和放射物的产生、处理和再循环都要经过许可[14]。排入当地水系统的液体一定要符合联邦洁净水法案规定的限度，以及其他州和地方的规定[15]。如果要处理高活性或有毒的化合物，需要隔离或预处理废水，或采用另外的处理方式。

3. 燃烧和爆炸的预防和处理

在制药操作中，爆炸的潜在可能是需持续关心的一个问题。许多制药粉尘，在空气中有足够浓度，有氧气和燃烧源的情况下，能够引发燃烧[16]。在使用有机溶剂制粒或者包衣时产生的粉粒和易燃蒸气的混合物，可能会形成意外的爆炸环境。在溶剂存放和分装区域的防爆需要特别注意通风、接地和分装方式。在所有的生产区域内，应该重视与危险环境有关的静电接地、电源插座，以排除潜在的引燃源。很多情况下，产生燃烧的可能性是不可避免的，所以试验工厂的设计必须包括抑制、限制、隔离和通风等的方法，保护操作者，以及最大限度地减少对设备和车间的损坏。最常用的方法是爆炸通风，在设备或者管道系统安装喷出板，安全地将爆炸通到工厂的外部。当有粉尘捕集装置安装在建筑物的内部，或者使用不能被通风排除到建筑物之外的有毒物质时，就应当使用抑制爆炸系统①。其他的资料可以参考国家防火协会（NFPA）法案 68、69、318、497 和 654[17~21]。

4. 高活性或毒性化合物的处理

处理高活性或毒性化合物时，建筑物的设计、设备的设计，以及在车间内外采用物理障碍和人员保护设备（PPE）是维持安全环境的主要方法。当设计一个用来处理高活性或毒性化合物的中试工厂时，必须考虑到很多原则：

- 所进行的单元操作；
- 所要加工的批规模；
- 投资成本和操作费用；
- 预期的岗位暴露限度（OEL）；
- 员工的安全性和工效学；
- 物料、设备和人流。
- GMP 要求；
- 交叉污染的风险；
- 车间的灵活性。

通过手套箱之类的物理屏障能有效地限制高活性或毒性化合物的污染。将产品或工艺置于隔离的物理障碍物中，能有效地减少需处理的空气量，使交叉污染的可能性最小，并且可以减少人员的暴露[22]。

在那些仅仅采用物理屏障不可行的情况下，处理这些原料时可以设计一套隔离服、空气锁及与主过道相比有负压差的房间，以及由 HEPA 过滤进入的空气和由双-HEPA 过滤的排出的空气。如果在没电时使用隔离服，排气阀门应接在不间断电源上以维持负压差。如果排气阀门坏了，工厂内的所有空气阀门都应该设计成自动关闭，这样就可以减少出现正压差的可能性。每一件隔离服都应该有一个专用的 HVAC 系统[23]。

隔离服可以根据呼吸空气的量进行设计。空气服应该易清洁、安全、舒适，并且有不同的尺寸。呼吸空气压缩机应接在不间断电源上。

用来去污的淋浴水装置以及废水转移装置也是需要安装的。去污淋浴和房间如果需要的话，可以安装排水管道和废水分流器，这样在进入普通废水系统之前，如有必要可以先对废水进行处理。图 6 所示的是一个穿着呼吸空气服、站在去污淋浴门口的操作者，可以设计按预定的间隔进行先水冲洗后空气干燥作的循环。

图 7 显示的车间设计、设备设计和人员保护的使用。这张图片是在一个具有 CIP 功能的完全封闭的系统内拍摄的气雾隔离系统。操作者穿着可洗的 Tyvek® 套装，戴着由电池供电的洁净空气呼吸器。

高活性材料的称重、分装、取样，以及真空粉尘收集区域需要特别的考虑。图 8 是一间称重和分装的房间。空气的流动情况已由烟雾视频和气体追踪器测试加以验证。另外，局部牵制点通过适合不同尺寸的毛瑟鼓的局部排放单元实现。如果需要的话，操作者可以使用空气呼吸服。图 9 所示的是一个专门用来分装小量的高活性化合物的受控单元。排出的粉尘在一个特殊设计的袋滤捕尘室里进行

① 来自 http://www.fike.com/epvent.htm.

收集。粉尘在一个装有空气锁、呼吸性空气和去污淋浴的自封闭的收集房间里远程旋转带入圆桶内。这个袋滤捕尘室的排气是通过一个袋进-袋出的 HEPA 过滤系统进行的。



图 6 一个穿着呼吸空气服、站在去污淋浴门口的操作者

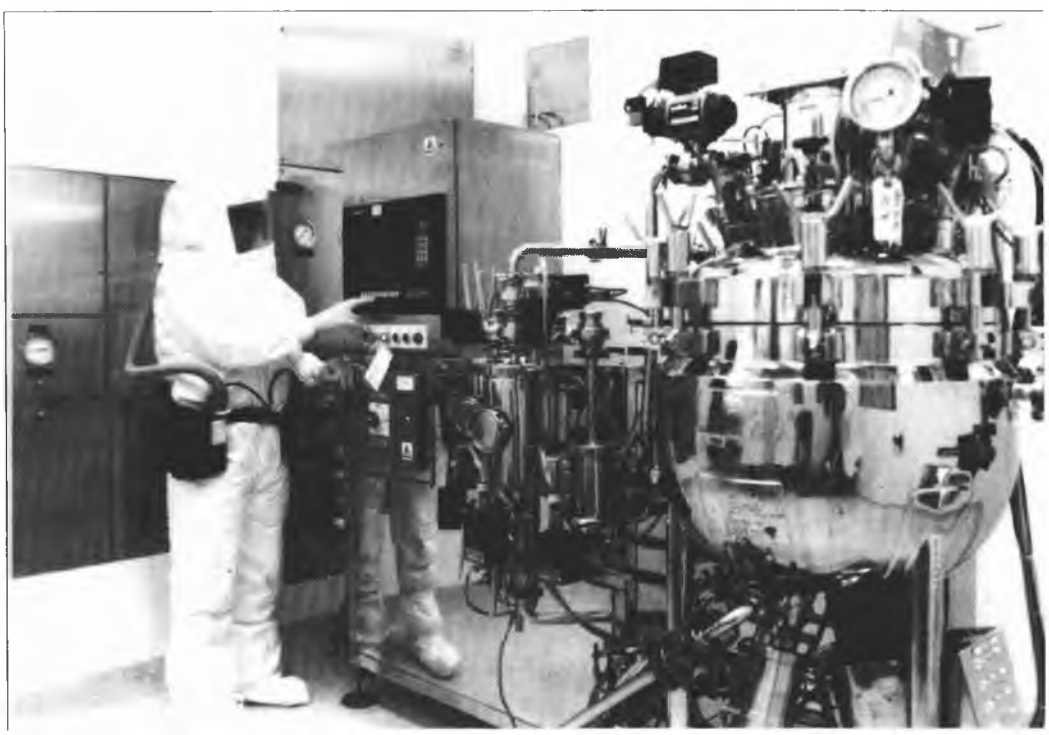


图 7 在具有现场清洁功能的完全密闭的系统中进行生产的气雾隔离系统。操作者身着可洗的服装，佩戴电源驱动的洁净空气呼吸器



图 8 称量和分装室。每个毛瑟鼓有专用的排出单元，直接置于不同大小的鼓上

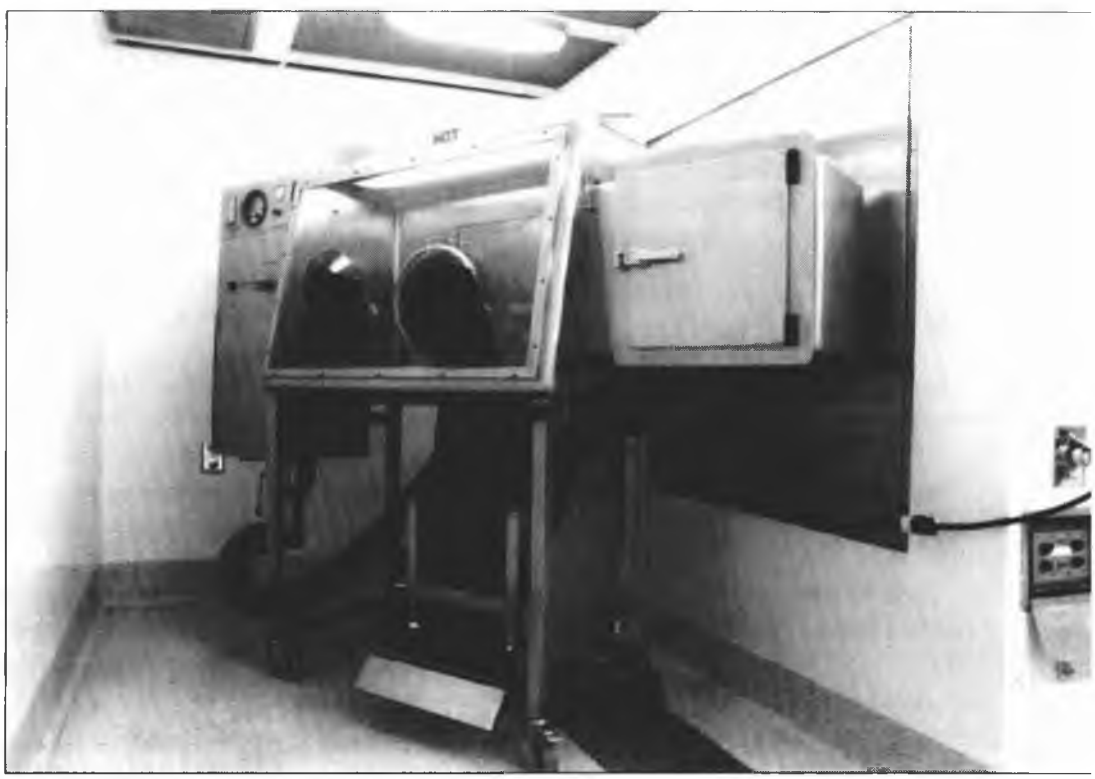


图 9 分装小量高活性化合物的密闭室

Z

5. 运行费用

运行费用高度依赖于公用系统的类型和范围，以及所采用的技术。一个无菌产品车间的费用比只生产固体剂型的中试工厂的运行费用高很多。存在生物利用度和（或）稳定性难题的 NCE 需要采用更新、更昂贵的技术。如果试验工厂与生产工厂在同一场所，后者能够分担动力供给能力和人员支持功能，包括维护、校对、工程、清洁、安全、验证、QA、微生物检测、QC、运输和培训等，那么，运行费用就可能降至最低。如果工厂是独立的，对场地要求就会增加很多，上述的支持就会增加运行费用。

建筑和运行的费用能基于产品开发的直接费用和合同下的临床生产费用进行合理化。此外，临床程序在时间上的耽搁也会使公司损失数百万的收入。然而，如果建筑或者运行的费用不能合理化，更有效的做法是外包给 CRO[24]。这种方法很适合那种成立不久或者比较小的公司[25~27]。

在过去，一些制药公司在开发的后期为了提供超强的能力，就采用过 CRO。现在 CRO 的作用已经延伸到研发的早期阶段和专门化的技术领域[28]。

外包给 CRO 并不是万无一失的，为了合作成功，双方都必须清楚地阐明自己的需要和期望，这包括一些对保密性和知识产权的归属[29,30]。

总结

为了实现我们所希望的战略目标，试验工厂车间的设计和建造一定要经过仔细的考虑。设计的灵活性对于产品和工艺的开发、生产临床供应，以及以有效的科学的方式对工艺技术的放大进行评估具有重要的意义。在当今的商业环境中，为了最终能够快速、高效地向市场输送新的产品和药物，很好地设计中试工厂来缩短产品研发的周期是非常有必要的。

参考文献

1. Cole. Graham C. Pharmaceutical Production Facilities: Design and Applications, 2nd Ed.; Taylor & Francis Inc.: Bristol, PA, 1998; 7－23.
2. Cole, Graham C. Pharmaceutical Production Facilities: Design and Applications, 2nd Ed.; Taylor & Francis Inc.: Bristol, PA, 1998; 29－45.
3. Willig, Sidney H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals, 5th Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 367－371.
4. Cole, Graham C. Pharmaceutical Production Facilities: Design and Applications, 2nd Ed.; Taylor & Francis Inc.: Bristol, PA, 1998; 257－261.
5. Cole, Graham C. Pharmaceutical Production Facilities: Design and Applications, 2nd Ed.; Taylor & Francis Inc.: Bristol, PA, 1998; 245－291.
6. Chao, Allen Y.; Forbes, F. St. John; Johnson, Reginald F.; von Doehren, Paul, Prospective process validation. In Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed.; Berry, I. R., Nash, R. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 234－238.
7. Chao, Allen Y.; Forbes, F. St. John; Johnson, Reginald F.; von Doehren, Paul. Prospective process validation. In Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed.; Berry, I. R., Nash, R. A., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993; 236－248.
8. Lorenzo, P.; Wheeler, W. P.; Ciepial, G. S.; Newberger, S. F.; Van Vessem, M.; Hsu, R. T.; Chu, J. C.; Koller, N. C.; Linder, J.; Yoakam, D.; Mann, B. Oral solid dosage forms. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISBE, 1998; Vol. 2, Tampa, FL.
9. Davis, B.; Durkin, J.; Xilogiannis, D.; Fortune, D.; Shelley, S.; Huibregste, W.; Stamford-Smith, A.; Wood, C.; Mulhall, M.; Farquharson, G.; McLucas, D.; Walker, N. Sterile manufacturing facilities. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1999; Vol 3, Tampa, FL.
10. Ricigliano, J. V.; Rowland, P. E. HVAC and utilities guidelines for pilot plants. Pharm. Eng. 1994, 14 (5). 56－59.
11. Geisler, G. L.; Myers, R.; Biskup, J.; Bader, B. Water and steam systems. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 2001; Vol. 4, Tampa, FL.
12. Lorenzo, P.; Wheeler, W. P.; Ciepial, G. S.; Newberger, S. F.; Van Vessem, M.; Hsu, R. T.; Chu, J. C.; Koller, N. C.; Linder, J.; Yoakam, D.; Mann, B. Oral solid dosage forms. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1998; Vol. 2, 48, Tampa, FL.
13. Davis, B.; Durkin, J.; Xilogiannis, D.; Fortune, D.; Shelley, S.; Huibregste, W.; Stamford-Smith, A.; Wood, C.; Mulhall, M.; Farquharson, G.; McLucas, D.; Walker, N. Sterile manufacturing facilities. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1999; Vol. 3, 114, Tampa, FL.
14. Conaway, J. Plant design and engineering. In Automation and Validation of Information in Pharmaceutical Processing, DeSpautz, J. F. Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998; 367－386.
15. Lorenzo, P.; Wheeler, W. P.; Ciepial, G. S.; Newberger, S. F.; Van Vessem, M.; Hsu, R. T.; Chu, J. C.; Koller, N. C.; Linder, J.; Yoakam, D.; Mann, B. Oral solid dosage forms. ISPE Baseline Pharmaceutical Engi-

neering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1998; Vol. 2, 65. Tampa, FL.

16. DeBellis, Michael P. Dust explosion protection in pharmaceutical processing. Pharm. Eng. 2000, 20 (2), 44—53.
17. NFPA Code 68, Guide for Venting Deflagrations, National Fire Protection Association, 1998 Edition.
18. NFPA Code 69, Standard on Explosion Prevention Systems, National Fire Protection Association, 1997 Edition.
19. NFPA Code 318, Standard for the Protection of Cleanrooms, National Fire Protection Association, 2000 Edition.
20. NFPA Code 497, Recommended Practice for the Classification of Flammable Liquids, Gases, or Vapors and of Hazardous (Classified) Locations for Electrical Installations in Chemical Process Areas, 1997 Edition.
21. NFPA Code 654, Standard for the Prevention of Fire and Dust Explosions from the Manufacturing, Processing, and Handling of Combustible Particulate Solids, 2000 Edition.
22. Lorenzo, P.; Wheeler, W. P.; Ciepial, G. S.; Newberger, S. F.; Van Vessem, M.; Hsu, R. T.; Chu, J. C.; Koller, N. C.; Linder, J.; Yoakam, D.; Mann, B. Oral solid dosage forms. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1998; Vol. 2, 45, Tampa, FL.
23. Lorenzo, P.; Wheeler, W. P.; Ciepial, G. S.; Newberger, S. F.; Van Vessem, M.; Hsu, R. T.; Chu, J. C.; Koller, N. C.; Linder, J.; Yoakam, D.; Mann, B. Oral solid dosage forms. ISPE Baseline Pharmaceutical Engineering Guide, 1st Ed.; ISPE, 1998; Vol. 2, 43, Tampa, FL.
24. Lightfoot, G. D.; Vogel, J. R. Contracting CROs into your organization: New srategies for new challenges. In The Drug Development Process—Increasing Efficiency and Cost-Effectiveness, Welling, P. G., Lasagna, L., Banakar, U. V., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996; 317—335.
25. Katz, M. Planning ahead for manufacturing facility changes (outsourcing). Biopharm 2001, 14 (1), 46—47.
26. Beddia, F.; Bertrand, S.; Dion, S. B.; Brown, J. G.; Palado, T.; Rolfe, B. Project management of small R&D companies part I. Pharm. Technol. 2000, 24 (11), 94.
27. Beddia, F.; Bertrand, S.; Dion, S. B.; Brown, J. G.; Palado, T.; Rolfe, B. Project management of small R&D companies Part II. Pharm. Technol. 2000, 24 (12), 68.
28. Soltero, R. A.; Stagner, W. C.; Kenley, R. A.; Caudill, W. L. The changing role of pharmaceutical development organizations. Contract services 2000 for the pharmaceutical industry. Pharm. Technol. August 2000, 2 (Suppl.), 36—42.
29. Woodward, R. S. Keys to developing an effective outsourcing strategy. Biopharm 2000, 13 (2), 22—26.
30. Messing, S. H. Getting the most out of outsourcing. Pharm. Technol. Eur. 2000, 12 (5), 72—74.

（赵晓群 译）

Z 中试工厂的运转

Mickey L. Wells
Samuel B. Balik
Ralph B. Caricofe
Charles W. Crew
Ronald A. Sanftleben
A. Wayne Wood
GlaxoSmithKline, Inc., Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.

引言

中试工厂的几个特性在其取得如下关键战略目标的过程中起着至关重要的作用：

- 处方和工艺的开发；
- 临床样品的制造；
- 技术评价，放样及转移。

这些特性包括：①现行良好生产规范（cGMP）；②灵活的受过良好培训的员工；③适合多种剂型开发的设备；④与生产操作原理相似的多种规模的生产设备。这些关键的特性有助于确定中试工厂目前运转的趋势。大多数产品开发和临床的生产活动应该加以精炼并在 cGMP 下进行。目前的法规管理大环境要求在开发过程的早期就执行 cGMP，而同时市场竞争要求更短的开发时间。以上因素以及药物经常被限制供应的情况，导致必须从中试工厂里生产的每批产品中获取尽可能多的开发信息。即使是仅仅以临床供应为目的的批次通常也包含了试验设计、生产优化或者放大等方面的信息，以尽可能多的在新产品开发中获得信息。

在中试工厂内为了提高效率，很多公司放弃临床产品制造人员和处方工艺开发人员分开的运行方式，而是支持更灵活的、有应答能力的、能自始至终支持产品开发的小组。人员必须在处方研究、工艺开发、放样、技术转移、遵守 cGMP 和临床样品的制造中进行培训。为了开发效率最大化，在相同部门的组织内合并临床样品生产、制剂开发、放样，以及技术转移的活动是极其重要的。为此目的，负责产品开发活动的项目组经常采用这种矩阵管理模型。

虽然中试工厂必须模拟最终生产新产品的生产环境，但是由于两类工厂的具体目标不同，在运转中存在很多差别。中试工厂促进产品开发，而生产工厂通常为市场制造产品。中试工厂运转必须灵活以适应产品开发的本质。

认识并且管理中试工厂和生产工厂之间在目标上的差异，是中试工厂成功运转的基础。本文主要介绍中试工厂环境的独特运转。

验证

cGMP 中试工厂里的大多数基本的验证活动与生产工厂相同[1~5]。一个验证总体计划应该说明设计指标和认证，包括安装认证（IQ），操作认证（OQ），以及所有的主要公用系统、工艺设备和计算机控制系统的性能认证（PQ）。安装和调试的数据应作为工程文件包的一部分加以保留。应该建立一个有效的变更控制系统。生产领域应该达到或者超过现行的食品和药品管理局（FDA）的标准。

完全验证的中试工厂应执行 cGMP，但是更重要的是保证在产品开发期间数据的完整性。中试工厂在这个时期产生的数据通常用来制定产品的质量标准和过程控制，以及工艺参数的控制限度。中试工厂里的设施及设备的验证，保证了中试工厂有效地模拟制造环境。这一点对于需要计算机控制验证的设备和自动化设备尤为重要[6]。在一个验证工厂里产品开发期间所收集的信息，将能为随后的规模扩大和生产场所的技术转移提供合适的数据。

与生产工厂相比，中试工厂的验证在许多方面与之不同，包括生产工艺验证、清洁验证和再验证。中试工厂的生产过程通常是不重复的。一个过程可能一次就完成了，不需要改变生产规模、设备，以及工艺变量等。通常生产工厂为了工艺验证需要生产三批或更多批相同的连续的产品，而这些在中试工厂都不需要。为了保证每批，特别临床使用的产品都合格，必须收集足够的加工过程中的数据[7]。数据可以在实际的实验开发工作期间产生，以证明工艺能达到要求；也可以像生产那样，从每批产品中收集大量的数据。试验数据和批生产数据的结合用于证明工艺的完整性。建立的质量标准应该表明产品的关键特性，如含量均匀性和剂量。生产开发早期，缺乏足够的数据以及工艺经验不足经常要求以现行的法规允许的最大限度来制定质量标准，例如美国药典标准。随着生产经验的增加，如果数据支持，那么质量标准会随着技术转移的进行而变得更加严格。

中试工厂的清洁验证不同于生产工厂[8~10]。因为不是重复生产，经常需要保证每批用于临床研究产品的生产设备在生产前后都是清洁的。在使用设备之前和（或）之后，

要保证无残余的药物或在一个可接受的水平，而这都通过擦洗关键的产品接触表面完成。在新化合物进入中试工厂之前，其清洁技术必须要基于设备材质或溶解度进行验证。对于一台特定的设备，验证结果，与常规清洁程序，即标准操作程序（SOP）一起，可以作为在每批生产之后选择合适擦洗方法的依据。

最后，与通常在生产工厂里使用技术相比，设施和设备再验证或验证回顾的结构不同。与生产工厂不同，中试工厂不可能经常使用每个设备或者每个系统。实际上，一些设备大量时间被闲置。再验证可能基于使用的小时数不是定期进行。因为使用较少，所以应该指出一些设备或者系统可能需要更频繁的再验证。不管选定什么标准，在中试工厂环境里必须建立一个正式的再验证计划。

培训

因为操作和人员固有的多变性，建立中试工厂人员的培训计划较复杂。与生产工厂不同，生产工厂是高度专业化的，所进行的操作变化很少，为了应对大量的产品开发计划，中试工厂必须准备做多种剂形。中试工厂的运转、设备和人员的多变需要一个灵活的入门、强化和补漏的培训计划。同时也需要一个广泛的跟踪系统和灵活的安排系统。最重要的是，培训计划要能够满足产品开发周期中变化的优先权，同时在生产临床试验产品时也符合 cGMP。

在中试工厂内培训可以分解为 4 个主要的部分：

- 符合质量标准，如 cGMP；
- 安全和环境责任；
- 符合 SOP；
- 技术技能和知识。

这些目标的排列顺序是被称为“从上至下”培训方法。它已经在制药行业成功使用[11]。建立一个 cGMP 培训计划的系统方法应包括正式的培训计划、书面培训手册、有效的培训方法、责任的分派、书面文档编制和周期性回顾，以及书面的指导说明[12]。一个动态的培训过程是极其重要的。最初培训一定要通过当今最新的计划来加强，该计划是说明工作要求变化、性能预期和技术的。

1. 中试工厂人员

中试工厂的操作人员的教育背景、工作经验和职能各不相同。多种学科可能被分成科学组、支持组，以及合同工几大类。后两组可更进一步再分成技术和非技术人员。不管分类如何，每一类都要确定一个基本的培训计划。进入中试工厂的特定区域要基于对特定种类人员训练的水平，如无菌的环境。

对包括制剂和工艺开发的科学人员在内的科学组的培训，代表大多数的培训要求。具有不同教育背景的人员，需要在中试工厂不同区域、不同剂型的众多设备上进行操作。科学家志在实验，对处方和工艺的评估是其工作重点。仔细规划培训内容极其重要，以确保相当水平的能力，并且要求所有的培训在中试工厂活动开始之前完成。这保证了在整个生产期间人员和设备的安全，并确保产品的质量。

对科技人员进行使用中试工厂的各种设备的交叉培训，对于进行有效的产品开发计划是至关重要的，但也造成了培训上的相当多的困难。为了保证科技人员具有熟练操作设备、遵守操作规程所必备的能力，训练的强度很大。一个受过良好培训的人员定期进行操作，得到了强化，能正确完成任务。因此，有必要让那些受过高度训练的科技人员在中试工厂特殊区域操作，例无菌地区。其他在特定区域经验较少的科技术人员受过较低水平的基本训练，在开发过程中起到辅助作用，但也可以安排进行与常规经验相比技术要求较低的操作。有时根据开发的要求在特定的操作领域指定“专家”。与有经验指导人员或“专家”一起在职培训是简单有效的入门和强化培训方法。设备制造商所提供的培训对科技和辅助人员完成基础水平的培训、确定强化培训计划都是很有用的。

技术支持组也必须进行适当的培训。他们可能代表设备和设施工程组、维修组、校准组，以及质量组，即 QA/QC。虽然他们的教育背景可能完全不同，他们的重点在中试工厂运转而不是科学人员的实验技术。对于培训设备工程组、维修组和校准组，最大的挑战是告知他们的责任和在中试工厂里的作用是怎样影响供临床使用的生产产品的最终质量的。质量组通常更了解 cGMP，以及明白其在中试工厂内的活动会怎样影响产品的质量。有关质量组责任的培训非常具体，但是关于 cGMP 他们需得到适当的基本培训也是很重要的[11]。

非技术支持组负责清洁和卫生。培训要求通常局限于进入中试工厂的具体区域。

不能忽略临时工和合同工培训的重要性。合同工或者临时工在工厂操作的时间和频率以及所要达到的水平应作为确定要求的标准。

2. 培训计划

一个中试工厂的培训计划有几个关键方面，与生产工厂使用的计划相比需要一种不同的方法。这些包括教育和指导培训计划的确定和制订培训手册、培训课程的个性化，以及文档编制和跟踪系统。

应该根据职能区域的操作范围来确定工厂教育和指导培训计划。对教育和指导培训来说应该有手册。指导的培训手册可以分成入门、强化和补漏。入门级的培训是针对新的或者准雇员，并应保证其可以掌握某种技能。强化水平的训练是针对于那些已经受过某领域培训的员工进行的。该培训目的是加强已经获得的技能并且防止执行问题。补漏的训练目的在于纠正发现的技能不足。操作设备的培训涉及的范围很广，从读 SOP 到完成评估表，例如从对简单设备操作的测试，到具有资质教练的更严格的监督和记录下的实际经验。

因为影响到全部人员，所以中试工厂教育课程通常针

对一般的对象制定。不过指导性课程可能技术性非常强，假定对象具有一定的能力。在任何情况下，作为培训手册的一部分，评估应能有效地评价学生的能力。在评价过程中发现的任何不足应该立即用另外的培训改正。

经常在开发过程中遇到的新技术对中试工厂的培训计划有一定的影响。新技术造成了特别的问题。因为培训必须由合格人员进行。一些新技术可以在设备供应商的工厂里学到，而且随后的初步培训可以由设备制造商的代表作为教练在中试工厂进行。对于开发组发明的技术，最好由发明者作为最初的教练。

中试工厂运转的差异性和所涉及人员的多样性要求对每一位员工进行人性化培训。前面所提到的“从上至下”方法在这方面上效果很好。重点是在开始指导性或者具体区域的程序之前要完成更高的教育过程。成功完成每个功能区域指定的基本要求的培训，可以控制中试工厂各区域的进入和操作。确定和编制每个培训要求的一种简单方法，是根据中试工厂区域和各区域的功能要求制定培训过程和课程的检查表。雇员有计划地对照检查表，明确了中试工厂在指定项目上的培训要求。结果就是个性化的培训课程文件。一旦确定，该课程就能用来满足项目的资源需求。

所有的培训一定有文件记录，并且要根据个性化的培训计划建立跟踪系统，以确定初级和强化培训的要求。培训计划也能用于进入数据库或者商业计算机跟踪系统。

应制定一张主要的课程时间表并发给中试工厂人员。安排课程取决于课程的类型，安排课程可能很费资源。在录像、基于电脑的训练（CBT），和精心设计的自学课程的帮助下资源可以得到更充分的利用。尽管如此，在职训练对强化自学课程的学习很重要[13]。

3. 培训媒介

已经成功地使用自学计划培训差异很大的中试工厂人员，在基于光碟信息存储量增加的可视化技术的帮助下，计算机工业在学习过程中取得显著的发展[14]。包括交互式 CBT 和交互式音频和影碟（CD-I）[15]。前者通过交互式课程软件得到加强，这种课程软件目的是激起兴趣和记录课程的完成。通过局域网和广域网（LANS 和 WANS）发布多媒体提供了更大的灵活性，操作者可从工作和操作区域进入培训项目。这些技术对中试工厂人员的优势包括：

- 从各种工作场所方便获得入门和强化培训的材料；
- 方便检索指定的信息；
- 规程和操作的形象化；
- 指南的一致；
- 个性化学习进度；
- 执行模拟操作的实践；
- 对交叉训练更有利的环境。

尽管一些优势受当今技术所限制，但更复杂的基于增强视觉系统的培训媒介将会得到广泛应用。

工程、维护和校准支持

随着中试工厂设备和操作越来越复杂和技术上种类越来越多，对支持组的需要，如工程、维修和校准组，在按 cGMP 方式执行计划活动中变得至关重要。

1. 工程

显而易见，工程和建筑的支持在设计、建设、调试和中试工厂设备的验证中必不可少。不过，一些大厂可能要求专职的工程支持人员去协调、安排，以及对运行中的操作进行指导。工程人员的主要目的是对设施和设备提供及时的支持和指导，以保证药物开发项目的高效运行。工程人员提供的支持包括：

- 设备获得、安装和维修；
- 对新系统和设备的工程文档编制和控制；
- 设备管理，以确保系统关键的系统，如环境控制、公用系统等的运行符合 cGMP 要求；
- 开发项目中协调和安排设备设置和相关的活动；
- 保证重要零备件的控制存货，如压片工具；
- 为设备、技术升级和操作供应编制预算；
- 指导清洁工活动。

工程支持人员在中试工厂的运转中也起关键性作用，他们选择和评估新工艺和物料处理设备、推荐密闭技术使强效药物的暴露减到最小，并且为在 NCE 的开发中至关重要的新技术提供支持。通过组成项目组，设备评估、获取、安装和认证得到加强，项目组包括工程和科技术人员，以及来自采购、验证、校准、维护、安全、环境、质量保证（QA），和其他必要职能部门的人员。明确成员担当的角色和责任的书面程序可能对开发必要的产品新设备和加工技术的实施非常关键。

对于大药厂来说，内部开发的或商用的计算机软件对工程支持人员在为开发、维修、校准和验证活动安排工艺设备和场所方面用处很大。

2. 维护

在中试工厂中，为符合 cGMP 的要求，确保开发过程中数据的完整性和设备的可靠性，维护程序是必不可少的。维护程序必须加以记录和建立书面程序。在食品及药品管理局检查时，在关键系统和设备上的所有维护活动一定要记录、批准、归档，并能检索。非常规的变化必须通过已建立的管理程序加以记录并得到批准。在维护活动中记录计算机系统或编码的关键变化很重要。

虽然中试工厂维护程序的基础类似于生产工厂，但有几个差别值得指出。中试工厂内可能因为产品开发的性质，所以关于系统和设备的维护程序更多种多样；而且，中试工厂的设备使用可能不如制造工厂常规，方式不同；不像制造工厂要一年、半年的定期进行，中试工厂按一些设备的使用时间进行预防维护更可靠。另一种方法是按规定检

查在中试工厂里的设备的使用情况，并且根据数据的重新制定预防维护程序。这就要求支持和维护人员在工程之间的密切配合。结果是在预防维护活动期间，资源利用和效率取得重要的改进。

在中试工厂内操作的维护人员要有责任心、受过良好的训练，并要具备工厂设备和系统的专业知识。工作人员要清楚地知道关键系统和设备的改变将怎样影响产品的质量。在常规和非常规的维护活动中重要的变化应该以有效的书面程序来表述。为了保证开发进程的完整性，变化和变更必须以迅速的方式传达给工程支持人员并最终交给科学人员。一旦临床的批生产受到任何影响，应迅速通知质检人员，以便采取合适的行动。

以电脑为基础的设备管理、控制、数据归档系统对确定需要维护的关键系统非常重要，对于报警趋势和环境资料的日常回顾也很重要[16]。已经发现振动分析系统可用于预防维护马达和其他系统的维修需要[17]。

3. 校准

按照 cGMP 的要求，同时也为了保证开发过程中数据的完整性，系统和设备上的关键仪器应该进行日常校准。在仪器方面中试工厂比生产工厂更复杂。在产品和工艺开发期间通过广泛地收集仪器重要的数据，以确定关键和非关键的工艺参数和控制水平。一旦这信息在中试工厂里收集完成并加以分析，只有关键的工艺参数及相关的仪器会转到生产工厂。由于这些原因，中试工厂的校准人员一定受过合格的培训，并熟悉广泛的仪器技术。像维护人员一样，他们必须完全知道相关的校准活动对产品质量的影响，并且通过书面程序将偏差转送给工程人员、科技人员，以及质检人员。因为设备和系统的广泛仪器化，所以工程人员、校准人员、维修人员和科技人员必须确定那些影响产品质量的关键因素。关键的仪器应该由操作人员日常校准和鉴定，非关键的仪器可以用来收集另外的数据。在日常的预防维护程序中这两仪器经常分别校准。

物料控制、库存清单和物料发放

在中试工厂内物流和控制需要灵活性、精确性和广泛覆盖性。这些活动在生产工厂和中试工厂之间有较大的差别。例如，生产开发用的和临床用的产品的长期计划常常有限，库存清单变化很大，由于实验性质开发活动不重复，并且当计划放发时要考虑材料的使用和质量。很多生产和中试工厂可以非常有效地使用传统的纸质跟踪系统，但是在中试工厂面向开发的环境中实行更灵活有效的计算机系统是合乎需要的。系统应该分清各种不同功能的用户。用户的特定组别决定了可用什么系统。以下详细描述说明实验和临床生产需求在中试工厂内怎样控制和分开，同时怎样允许活动的最大灵活性。

1. 库存清单

库存清单可以用一个经验证的计算机库存-订购-发放系统管理。库存清单可以包括通用的物料和为特定用途订购的物料，前者应该检测并自动批准，而后者可以作为临床或者实验材料纳入库存清单。临床用材料必须全面测试，并在使用之前正式批准。实验材料仅适用于非临床的工作。这种方法允许全部跟踪收到的批号，并将 QA 和质量管理（QC）部门的资源需求减到最小。

在中试工厂收接物品前，必须用独特的代码在库存清单数据库中识别物品[18]。当收到物料时，应该检查和核实，并用库存清单和检验标签标识。QA 组收到电子报告后，开始取样。此时置于安全的储存区域的物料样品，在 QA 放行后转移到仓库[19]。任何位置的变化均记录在电脑系统里。

库存数量、状态和存放位置应该使用统计方法确定，这样可以通过使用频率给库存分类。经常使用的材料要经常取样。库存数量的准确度必须保持在预定的水平内，例如，在实际水平的 95%～105%，否则就要调查偏差的原因[20]。这种方法不同于在生产的操作过程中采用的循环盘点方法[21]。

库存数量、状态和位置应该按包装加以跟踪。通过一系列预先规定的查询和报告，或者通过灵活的查询，系统应该允许用户查阅专门生成的在线的或者打印的库存清单。通过任何远程终端均可以进入系统。

2. 订购

全部订购必须通过电脑系统进行，直接通过台式计算机的库存计算机系统订购系统定义的物品，每批的订购自动产生一个批号。通用于订购批处方物品以外的所有物品。

那些订购机制把订单类型区分开（实验与临床），允许系统检查不符合物料状态的用途。如果物料状态不适合所请求的使用目的，如订购检验或者实验用材料用于临床，应立即提示用户解决该问题。可以暂缓下订单，等待获得合适的材料状态。此时停止发放有问题的物品。订购程序应该灵活，方便订货的个人可以选择发放的质量差异，如±1%，指定批号和包装，或允许系统基于先进先出原则自动挑选批号和包装。订单也可用于描述用途、参考笔录，或者进行其他活动。

在订单完成之前，指定的物料（通常是药物）的发放，应该需要特定的授权。要求这种控制程度的物料在限定阶段，在工厂正式接收之前要指定。提交的发放订单由发放人员安排在发放区域打印。收到订单，计划发放日期、发放的完成可以通过电子邮件传给定货人。

3. 标签

系统应能打印各种各样库存清单，和样品发放前后的标签。所有标签应该包括条形码和印刷的有关批和（或）批号的信息。标签必须符合 GMP-GLP 要求，以满足实验室和临床生产的需要。标签应该有不同的大小，以适合贴在实验室样品容器和产品包装上。

Z

4. 将来的系统

电子库存、订购、放发系统是开发电脑系统的第一步，这种电脑系统支持GMP文档编制要求的领域，和（或）手工操作强度大的领域，与投资努力相比，能提供不成比例的小的回报。对系统的将来的改进包括：

- 在用户、库存系统、QA，和采购之间的电子界面，支持无纸的订单采购；
- 电子记录；
- 电子批记录。

实施将提高效率，并通过法规指南的一致要求而提高质量。附加的好处是为FDA检查提供迅速检索文档的能力，以及开发可获得的产品史，当产品从开发转到商业场所时，能将其电子传送。

加工和生产活动

中试工厂加工和生产活动包括处方研究和工艺开发研究、临床样品制造、技术评价、规模扩大，和技术转移。稳定性试验和临床研究的包装可以在中试工厂里进行，但这些活动经常在独立的、明确的工厂里进行。详细讨论所有这些领域不属于这篇文章的范围。由于中试工厂的结构由早期确定的战略性需要驱动，所以只提及这些领域。

1. 处方和工艺开发

科技人员必须能进入中试工厂并以实验模式操作，使用的操作规程和工艺不应破坏工厂cGMP的完整性[22]。操作规程应该足够灵活性，允许以开发科学家认为的高效方式进行批生产。像前面讨论的那样，工厂有一个详细的物料控制、库存和为实验和临床生产的物料分发系统，以区分实验和临床生产。中间产品和最终产品应该按实验或临床物料贴标签进行识别。在完成验证之前可以利用对早期开发工作或者对新技术和设备的评估结果。研究记录不是正式的批记录，在开发过程中是必要的。质检组参与批实验样品制造受到限制。通常，不管怎样的生产活动，在说明设备操作的规程方面是等同的。例如，设备和生产车间的记录、清洁程序、为安全目的在设备操作过程中训练，和环境监控的计划关于生产活动应该是透明的。

2. 临床样品的提供

一项在精心设计的中试工厂里的重要活动是临床样品的制造。为了适应剂型的多样性，中试工厂的设计应该是灵活的。灵活性提供下列优势，这对临床样品的供应和“对照品”（阳性临床对照）的生产直接适用：

- 基于新化合物的物理、化学，或生物学性质而选择的最佳剂型；
- 为适应不同的患者情况，可以开发不同的剂型；
- 与常规生产的剂型不同的对照品剂型的开发。

高效率的临床样品的生产需要规模不同但设计相同的设备，以应付大量药物供应的需求。临床供应需要能迅速从几百个剂量单位的Ⅰ期、Ⅱ期的研究到数百万个剂量单位的Ⅲ期、Ⅳ期研究。迅速扩大规模生产的能力直接与可获得相似的大规模设备有关。随着临床供应的需要持续增长，与小批量的生产相比，大批量的生产明显节约了时间和减少了加工、检测和文档编制的资源。一般的法规要求固体口服制剂的批量是商业生产的批量的十分之一，或者至少10万个剂量单位，在中试工厂里生产大批临床样品的优势得到了很好的显现。

进入临床试验的最快的途径通常是使用一个无菌的非肠道剂型。安瓿在早期的开发过程中是合乎需要的，因为只要考虑一种材料的产品相容性，能迅速地开发和进入临床研究。中试工厂内的无菌工艺区域的操作控制水平应与常规生产工厂一致。独特的环境、培训要求、专业的操作规程，要求在中试工厂内的无菌区域应该严格按照法规的要求，并在cGMP下进行操作[23]。区域的微生物的完整性必须通过常规的清洁和卫生保持。卫生计划可以围绕区域的使用。频繁使用的时期可能需要更频繁的卫生清洁。最终由环境监控计划确定需要的清洁频率。

因为科技人员不经常使用无菌生产区域，培训至关重要[24]。准备在这些区域工作的人员应该进行完整的培训，并参加常规的定期培养基灌装。既然批量比正常生产小，在模拟的细菌生长培养基灌装中，灌装的样品数可基于在中试工厂环境中生产的产品的真实规模和加工时间。如果设备的规模能保证，按现行法规指南的要求至少应灌装3000个剂量单位以上[23]。

无菌临床样品的生产需要多种工艺设备：

- 玻璃和瓶塞清洗和硅化设备；
- 干热和蒸汽灭菌设备；
- 安瓿和针剂灌装设备；
- 冷冻干燥器；
- 轧盖设备。

工艺设备应该覆盖广泛的尺寸、单位、体积和操作条件，如速度，在批量和无菌剂型要求方面具有最大的灵活性。无菌产品生产使用的中试工厂设备的例子见图1。

如同在常规的生产工厂，中试工厂应该建立对有生命和无生命的微粒、生物负载和随物料进来的热原负载的环境监控程序。预洗和组分消毒有助于提高操作效率。

高效率的临床样品的开发，需要中试工厂有生产多种固体和非无菌液体剂型的能力。中试工厂内生产非无菌制剂的区域应该设计灵活。在这些区域的操作应该达到在常规生产工厂所达到的cGMP的相同标准。基于药物的可获得性，在设备规模方面应有灵活性。因为很多临床样品是借助于双盲灌装技术，设备应该能把粉末、颗粒、小珠和小片装进或装满硬明胶胶囊。图2为生产临床样品的典型灌装设备。

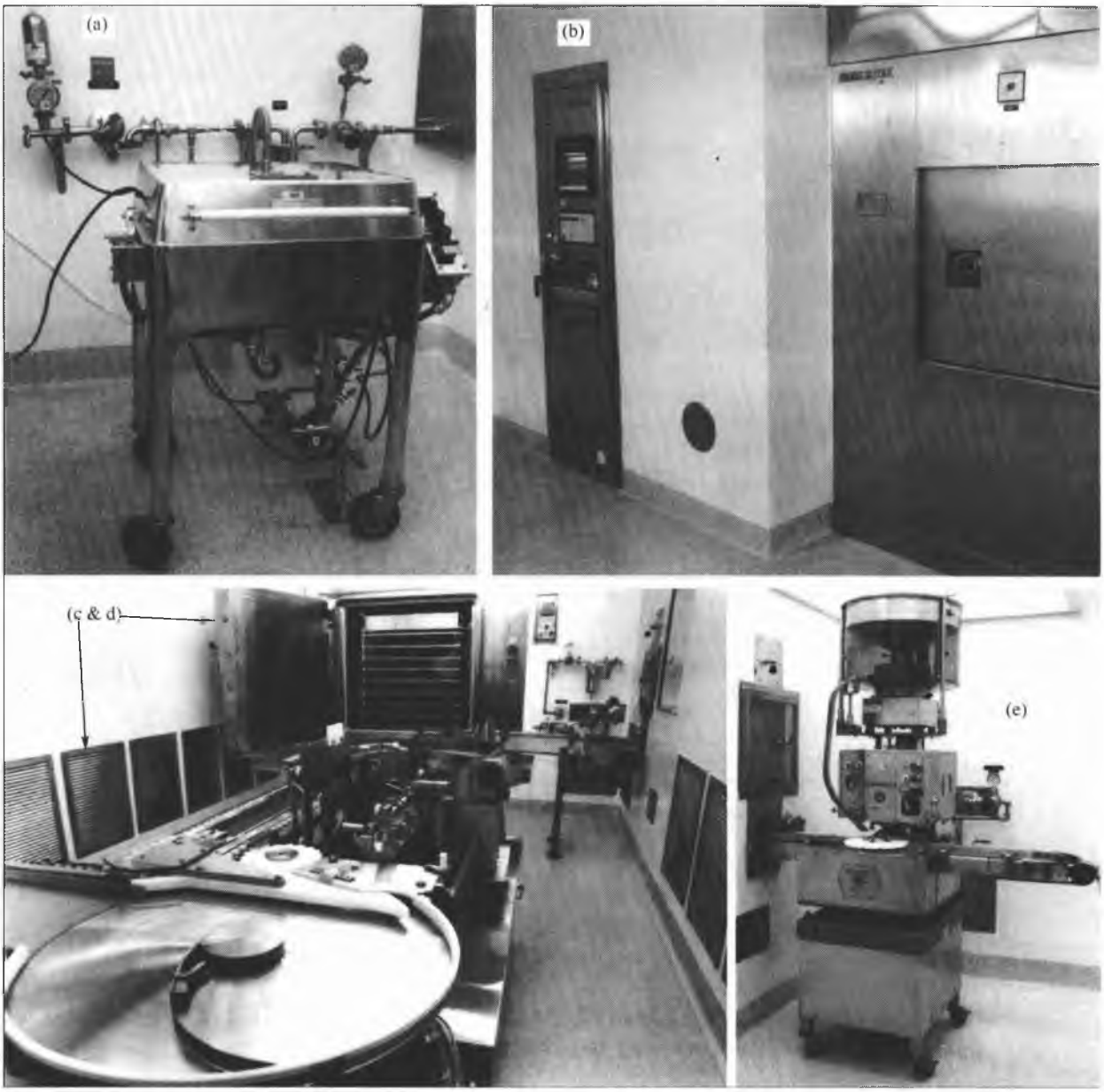


图 1　中试工厂生产临床样品的无菌制剂工艺设备。(a) 安瓿清洗机 (Metromatic)；(b) 湿热灭菌器 (Amsco Finn-Aqua)；(c) 针剂灌装机 (TL Systems Corp)；(d) 冻干机 (Edwards High Vaccum International)；(e) 轧盖机 (The West Co.)

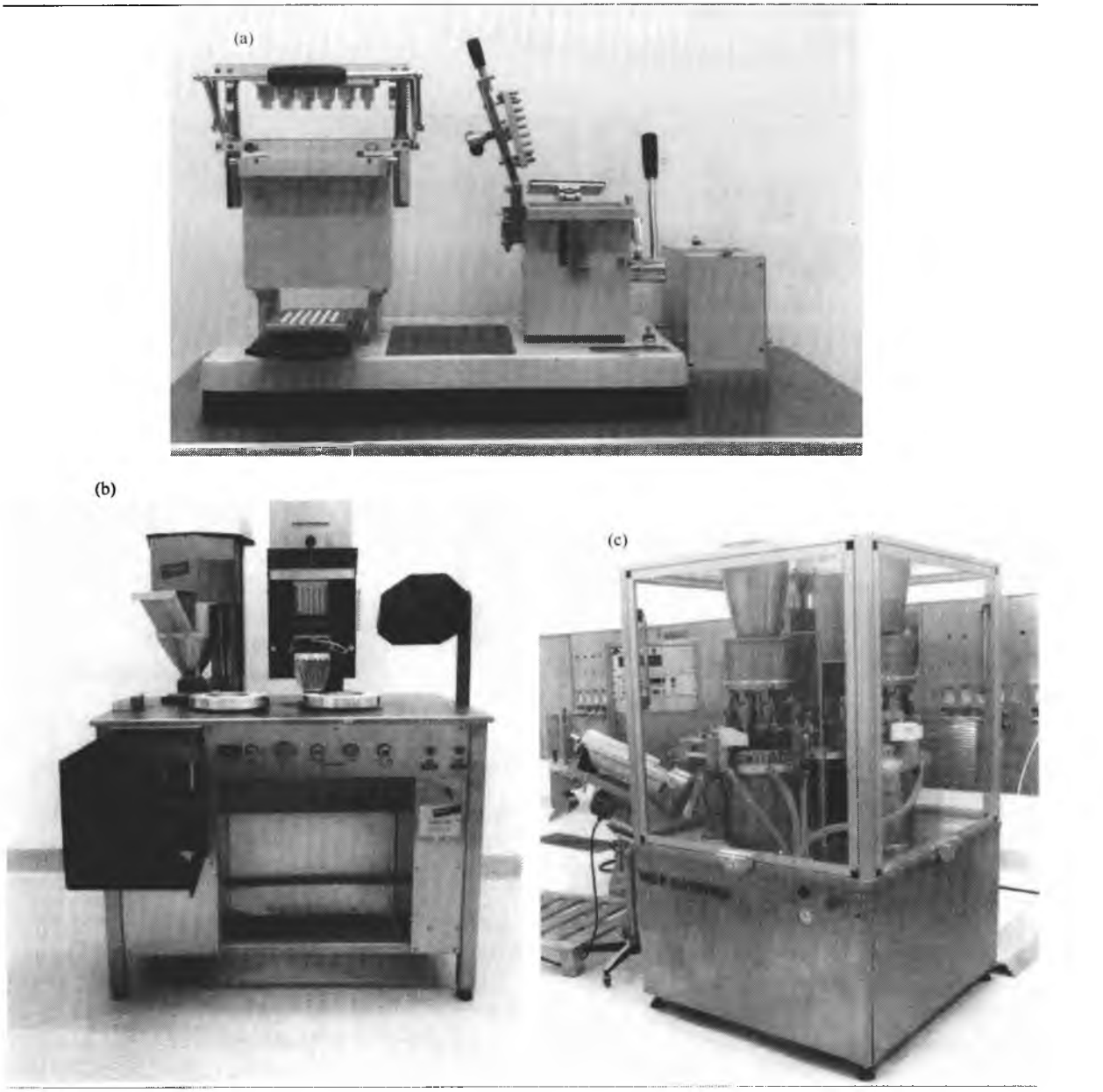


图 2 中试工厂生产临床样品的灌装设备。(a) 手动灌装设备 (Dott. Bonapace &C.); (b) 半自动灌装设备 (Elanco Qualicaps); (c) 自动灌装设备 (MG Amercia)

在一些临床试验中，可能需要气雾剂和半固体的制剂。生产气雾剂需要有半自动或自动的设备，这些设备有能力生产 100～10 000 单位，以满足临床样品的需求（图 3）。

所有上述的剂型都可在临床试验中作为开发的产品或临床对照品使用。临床的“对照品”（阳性的临床对照品）源于法规环境，Ⅲ期临床研究必须包括一般认可的治疗组、开发的 NCE 组及安慰剂组的比较。为了避免临床试验的偏见，对照品和安慰剂进行设盲，即用一种方式生产以使他们彼此实际上难以区别。对剂型不同的产品来说，通常采用双盲设计。例如，如果 NCE 开发成片剂，而上市的对照品为定量吸入剂（MDI），那么要生产每种产品的相同的安慰剂。临床患者将服用活性的 MDI 和安慰片剂，或相反。对照品设盲经常模仿 NCE 开发计划，但时间大为缩短。设盲过程通常需要有限的处方前研究、处方研究、工艺开发和优化、规模扩大、管理文档编制。设盲过程取决于工艺，可能要求进行体内生物等效研究，以确保盲法不改变药物有效性。图 4 给出了设盲的临床对照品的开发活动的细节。普通剂型设盲技术见表 1。

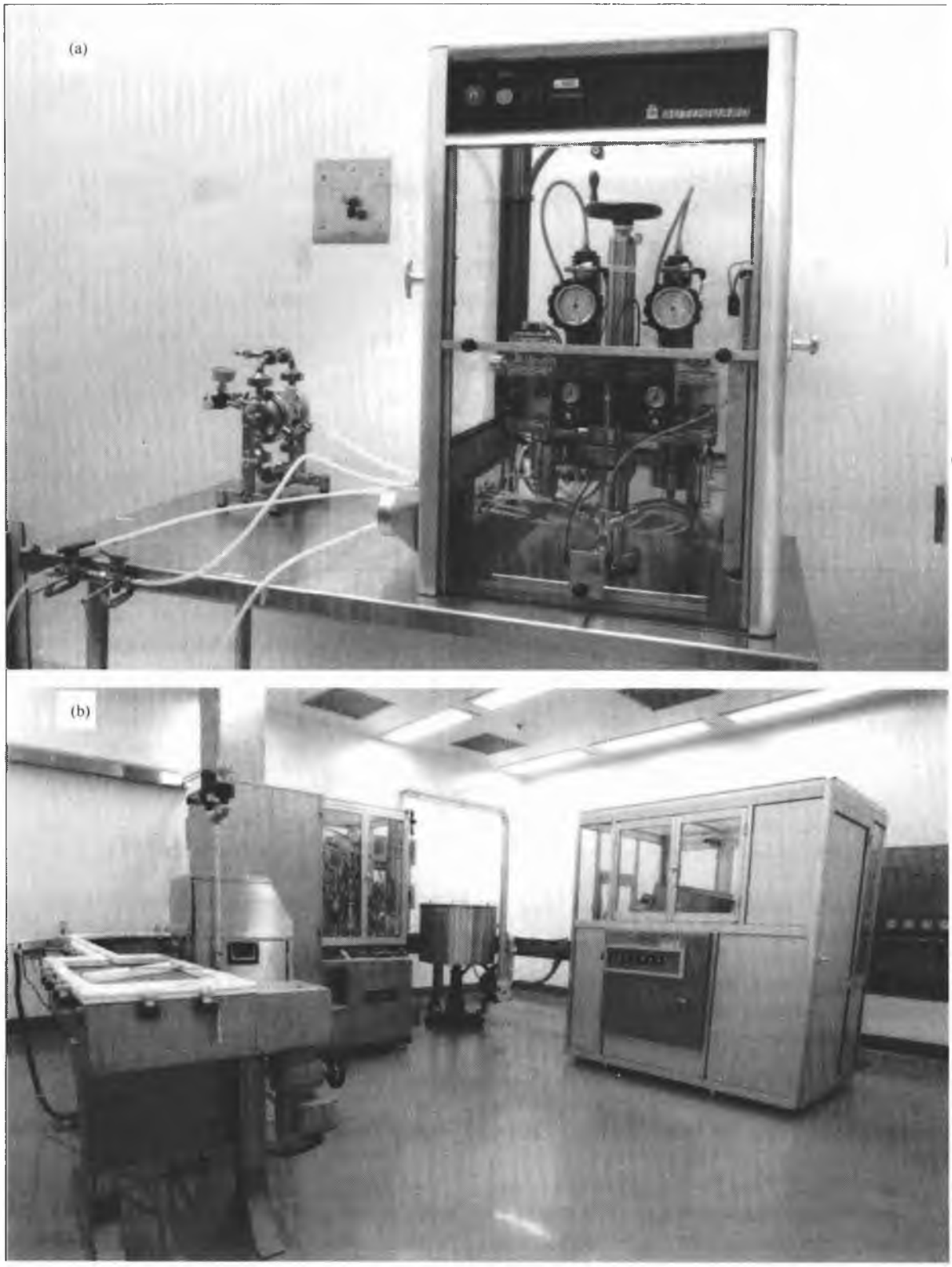


图 3 中试工厂生产临床样品的气雾剂灌装设备。(a) 手动灌装设备；(b) 自动旋转灌装设备
(均为 D. H. Industries Limited 公司产品)

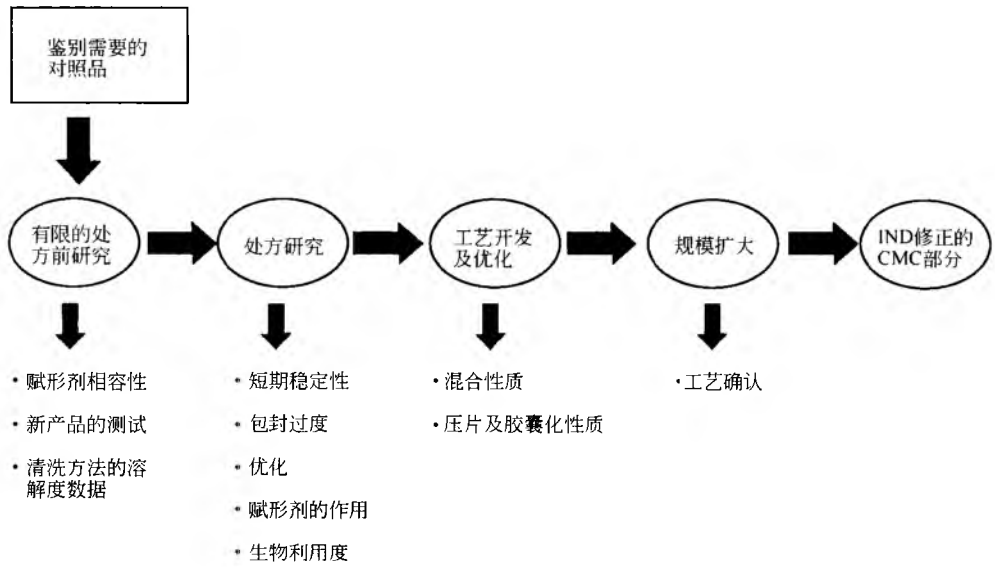


图 4 设立双盲临床对照品的典型活动

表 1 中试工厂生产普通临床试验剂型的双盲技术

技 术	目 的
固体[1]	
完整片剂或胶囊的再灌封及灌封机	稳定性试验和相似的溶出度
薄膜包衣掩盖商标和专利颜色	稳定性试验和相似的溶出度
剂型磨碎，用标准工具重新压制	稳定性试验和生物等效性试验
剂型磨碎，粉末灌胶囊	稳定性试验和生物等效性试验
片剂颗粒灌胶囊	稳定性试验和相似的溶出度
片剂包糖衣掩盖划痕	稳定性试验和相似的溶出度
液体[2]	
重新包装产品和生产相应的安慰剂	稳定性试验
擦掉所有的产品标签，将相应的安慰剂包装于相同的容器中	安慰剂的稳定性试验
定量吸入剂[3]	
擦掉所有的产品标签，用相同的阀门和罐生产相应的安慰剂（对于含药和安慰剂产品采用含药产品的驱动器）	仅测试安慰剂的稳定性
粉末（供复溶用）[4]	
为了配合安慰剂擦掉所有的标签和产品包装	仅测试安慰剂的稳定性
将产品重新包装于标准包装中，相应的安慰剂也采用相同包装	仅测试安慰剂的稳定性

1）对于重要的研究，均要考虑生物等效性试验，所有的技术要求开发相应的安慰剂型。

2）填充小丸的胶囊的重新封装，要求安慰剂也为填充的小丸，使晃动的声音和活性药物一致。

3）颜色、澄明度、黏度、气味、味道和相同的包装为关键的设盲参数。

4）粉末颜色、质地、粒径、质量、气味、复溶容器、复溶体积、黏度、味道、复溶后的颜色稳定性、混悬剂的物理稳定性等为关键的设盲参数。

在准备生产新的临床样品或对照品时，作者成功地采用矩阵组方法优化了开发组、支持组、用户（医学或市场小组）之间的界面，保证了最终产品满足用户的需求。图 5 显示了在提供临床剂型时涉及的重要的矩阵组和活动的进程图。临床供应、包装，以及运输活动的宽度和广度可以相当复杂，例如，以下详述源于图 5（生产和包装的准备）的单项活动：

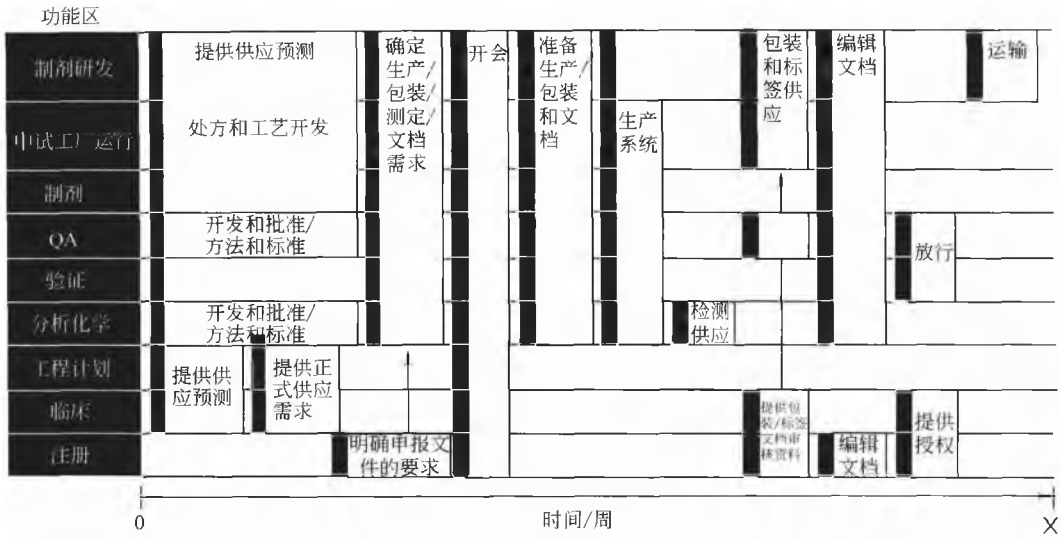


图 5 中试工厂供应临床试验样品涉及的重要功能区和矩阵相关的活动的模拟图

- 剂型的完成；
- 分析方法的开发、验证和转移；
- 最终产品的质量标准；
- 生产的时间表；
- 合约方工作和服务合同的保密协议和声明；
- 过程中试验和标准；
- 清洗生产设施；
- 清洗设备；
- 设备的残留物的擦净；
- 以微生物方法测试设备；
- 以微生物方法的测试设施；
- 取样要求；
- 擦洗结果；
- GMP 验证核查（合约方）；
- 产品项目代码确定；
- 原料订购；
- 原料的检验证明书（COA）；
- 原料收到和取样；
- 原料的测试和放行的推荐信；
- 原料放行；
- 包装材料订购；
- 包装组件的 COA；
- 包装组件的放行。

一旦开发了特定的临床样品或对照品，当明确在将来的临床研究过程中常规使用时，在中试工厂生产它，储存原材料会更高效，费用更低。

3. 技术评价、规模扩大和转移

中试工厂及其人员在技术评价、规模扩大和新产品转移活动中起关键作用。这些活动开始于开发早期，包括工艺开发和规模扩大的技术方面、技术转移小组的组织和职责、转移过程的文档编制，并经常准备 FDA 的预检。正确设计和运转的中试工厂能提高支持内部转移活动的科学数据的收集，以及管理规章的提交和 FDA 的预检[25]。

下面是中试工厂规模扩大时需要注意的四个关键技术方面：

- 早期的在开发过程中关键部分和制剂变量的鉴定和控制；
- 尽可能模拟在生产工厂使用的设备的中试工厂设备；
- 通过使用工程和回归模型来鉴定中试工厂设备的操作范围和关键的生产参数，即数据统计实验；
- 收集足够的产品和生产数据来表现每机组运行的特性。

设备设计在说明每个技术方面起关键的作用。但是，科学人员和中试工厂的生产操作人员在保证技术向生产的顺利、及时的转让中起关键性作用。

过去，处方和生产技术的转移有时不直接从开发人员转到生产人员手里，缺乏相互联系或者预见性。不过现在，人们已经意识到要获得有效而成功的转移，这几个组在开发早期相互交流很重要。科技人员和中试工厂人员在向中试工厂的生产人员演示新产品生产技术起着关键作用。中试生产或在中试工厂的大规模生产中面向小组的方式，将允许关键生产岗位人员观察和评论工艺，并基于生产岗位的知识提出具体改进措施。图 6 显示了生产技术转移中的矩阵组法、重要的研发和生产阶段以及与其相关的活动。在产品开发期间就开始的并贯穿产品生产的中试工厂人员间的相互交流，能确保产品向市场的平稳过渡[26]。

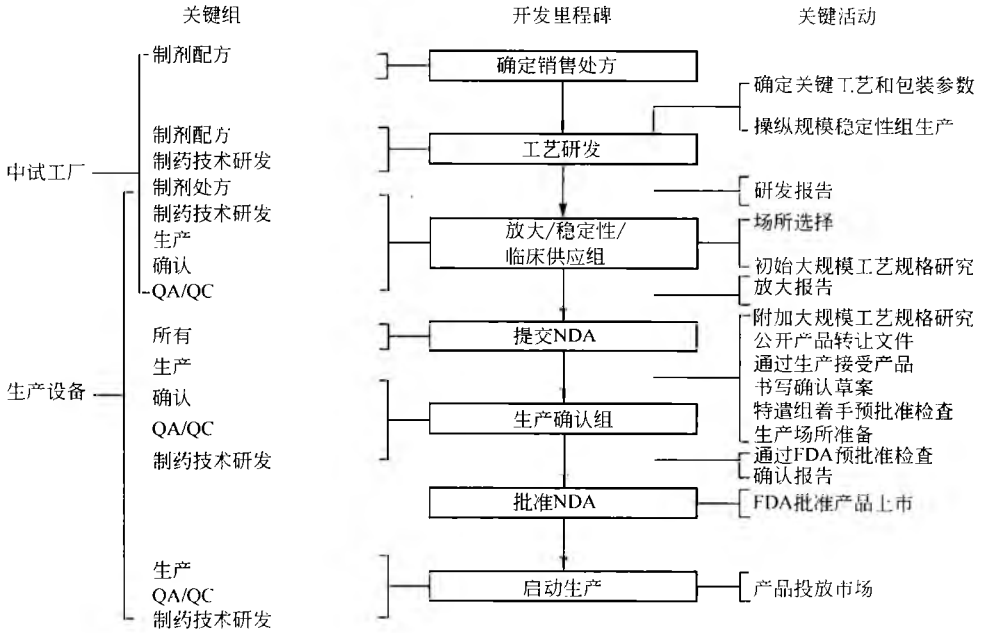


图 6 处方和工艺技术从中试工厂转移至生产工厂时经历的重要的小组、活动和开发阶段的关系

在中试工厂和生产工厂准确地编制生产试制文档，对比生产结果，有助于在临床样品和稳定性试验样品的生产中，对中试规模的生产规模的转化的实施。对于成功获得FDA预检，建立中试规模和生产规模批量之间的联系通常是很关键的。

QA-QC

随着中试工厂的规模和复杂性的增加，为确保符合cGMP和其他法规的要求，有必要设立专门的QC和QA部门人员。

1. QA

FDA规定当药品开发进入到生产供人用的产品阶段时，必须符合cGMP的要求[27]。工厂的公用设施、设备和操作规程应进行验证，以符合法规要求。中试工厂QA科技人员的活动可能不同于生产工厂。QA科技人员应该建立操作规程系统，以确保在药物开发过程中中试工厂的运转符合cGMP的要求，特别是有关临床样品的生产。负责中试工厂活动的QA科技人员应该牢牢地把握新产品开发活动的宽度和广度，及在中试工厂的开发环境中适用什么样的法规。为了随时了解中试工厂的特定项目活动，必要时提供专家意见，推荐将QA人员作为负责新产品开发的小组成员。其他类似于生产工厂的QA活动包括：生产过程的文档控制和QC实验室、原料控制、过程中的材料控制、偏差处理、监督生产清洁和工艺、产品质量的评价，及为中试工厂建立培训计划[28]。在所有这些部门建立系统、规程和交流，对于顺利地运转中试工厂非常重要，而且中试工厂每个人员应完全意识到这一点并受到培训。

2. QC

负责中试工厂活动的QC职责与生产工厂的有一些不同。终产品和材料的放行测试由负责NCE方法建立的分析化学组承担。临床研究样品和材料的放行测试由单独的QC组承担，这些分析方法已经正式确定。对于更大、更复杂的中试工厂，要设立工厂专职的QC部门，负责临床样品、组件和原料的物理、化学，以及微生物检验；负责中试工厂的物理、化学和微生物环境取样、测试和跟踪，例如水、压缩气体、空气；以及进行验证和再验证的测试。让QC人员在开发、规模扩大，以及技术转移活动中进行测试也很有用。必要时，QC人员可以介入负责新产品开发的项目组，并贡献其专业技能。

小结

设计中试工厂时要牢记基本的战略目标。随着工厂变得更大、更复杂，需要来自大量技术规范的有组织的支持。虽然很多活动与生产工厂的要求类似，必须意识到在研究与开发（R&D）环境和制造环境之间存在基本的区别。人员的组织和活动的限定必须围绕新化合物和产品的开发而不是围绕常规生产。成功地运转中试工厂需要考虑、组织和管理这些差别，以实现有效的新产品开发，同时满足制药工业所要求的严格的科学的法规标准。

参 考 文 献

1. U. S. Food and Drug Administration, Guideline on General Principles of Process Validation; U. S. FDA: Rockville, MD, May 1987.

2. Berry, I. R.; Nash, R. A. Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1993.
3. Cloud, P. Pharmaceutical Equipment Validation—The Ultimate Qualification Guidebook; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1998.
4. Carleton, F. J.; Agalloco, J. P. Validation of Pharmaceutical Processes, Sterile Products, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
5. Sofer, G.; Zabriskie, D. W. Biopharmaceutical Process Validation; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2000.
6. deSpautz, J. F. Automation and Validation of Information in Pharmaceutical Processing; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1998.
7. U. S. Food and Drug Administration, Guideline for the Preparation of Investigational New Drug Products (Human and Animal); U. S. FDA: Rockville, MD, March 1991.
8. U. S. Food and Drug Administration, Guide to Inspection of Validation of Cleaning Processes; U. S. FDA: Rockville, MD, July 1993.
9. LeBlanc, D. A. Validated Cleaning Technologies for Pharmaceutical Manufacturing; Interpharm Press, Inc.: Englewood, CO, 2000.
10. PDA Biotechnology Cleaning Validation Subcommittee, Cleaning and Cleaning Validation: A Biotechnology Perspective; PDA: Bethesda, MD. 1996.
11. Akers, M.; Bishara, R. H.; Barber, P.; Hatgas, S. G.; Meyer, D. K.; Wachter, R. O. CGMP education and instruction: a corporate approach to employee training worldwide. Pharm. Technol. 1993, 17, 51—60.
12. Tetzlaff, R. J. In FDA Inspection of GMP Training Programs, GMP Training and Education Association's Biannual Conference, Baltimore, MD, Oct 2—4, 1991.
13. Moreland, R. L.; Myaskovsky, L. Exploring the performance benefits of group training: transactive memory or improved communication? Org. Behav. Hum. Dec 2000, 82 (1), 117—133.
14. Wright, E. E. Making the multimedia decision on strategies for success. J. Inst. Del. Syst. 1993, 7, 15—22.
15. Moss, S. H.; Redfern, P. H.; Brown, K. N. Opportunities for the use of computer-based media in pharmaceutical training and education. Pharm. Sci. Technol. 1998, 1 (2), 54—61.
16. InTouch Man-Machine Interface Application General or Development System User Guide and Reference Manual; Rev. B Wonderware Corporation: Irvine, CA, September, 1993.
17. Jackson, C. The Practical Vibration Primer; Gulf Publishing Co.: Houston, 1979.
18. Willig, S. H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 225—226.
19. Willig, S. H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 83.
20. Willig, S. H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 214—215.
21. Plossl, G. W. The Production and Inventory Control Environment. In Production and Inventory Control Handbook, 3rd Ed.; Greence, J. H. Ed.; McGraw-Hill: New York, 1997; 2.3—2.33.
22. Willig, Sidney H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals, 5th Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 99—138.
23. U. S. Food and Drug Administration, Guideline on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing; U. S. FDA: Rockville, MD, June 1987.
24. De Vecchi, F. Validation of Environmental Control Systems Used in Parenteral Facilities. In Validation of Pharmaceutical Processes; Carleton, F. J., Agalloco, J. P. Eds.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1999; 228—229.
25. Willig, Sidney H. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals, 5th Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 2001; 367—371.
26. Goldberger, Francis. Pharmaceutical Manufacturing, Quality Management in the Industry; Herissey Press: Evreux, France, 1991; 429—445.
27. U. S. Food and Drug Administration, Guideline for the Preparation of Investigational New Drug Products (Human and Animal); U. S. FDA: Rockville, MD, March 1991.
28. Peine, I. C. Quality Assurance Compliance Procedures for Pharmaceutical and Biotechnology Manufacturers; Interpharm Press, Inc.: Buffalo Grove, IL, 1994.

（赵晓群 译）

Z

注射剂

Gayle A. Brazeau
Adam Persky
Jintana M. Napaporn
University of Florida, Gainesville, Florida, U. S. A.

引言

注射剂“Parenteral”这个单词是来源于“para”和“enteron”，意思是绕过肠道。根据 USP 24/NF19，注射给药被定义为“通过皮肤或其他外部界面的组织来注射药物的制剂，而不是通过消化道，目的是将其所含有的活性物质通过重力或压力直接输送到血管、器官、组织或损伤部位。注射剂的制备是通过审慎设计的方法以确保它们符合药典中关于无菌、热原、微粒和其他污染物的要求，如有必要应含有微生物抑制剂。注射剂（injection）是用于注射给药的制剂和（或）在给药前调配或稀释注射药品的剂型[1]。”

当口服给药受到限制时，注射给药就是一个有效的给药途径，一般在专门机构里使用。随着对降低整个医疗费用的关注，新生物技术药物的发展，改良的和新型的相关输液技术的发展，注射给药已经成为患者在医院和家庭治疗中重要的组成部分。本章将讨论注射剂的历史以及注射给药在医疗中的使用，其优点和缺点，给药途径，注射设备和输液器具，注射产品的类型和组成成分，包装，便利系统与无针系统，注射产品的临时配制，灌注泵装置和未来的剂型。

注射给药的历史和使用

原著第一版详细记录了早期的注射治疗历史[2]。注射治疗最早出现在 15 世纪后期，三个男孩给罗马教皇 Innocent八世输血，结果四人均死亡，这些人的死亡致使几个世纪禁止使用这种类型的治疗方法——输液。直到 17 世纪首次在动物身上进行药物的注射给药研究，19 世纪中期首次报道了皮下注射针的发展和人体注射给药的使用，到 19 世纪末，人们越加关注葡萄糖和生理盐水的静脉注射。Baxter 在 1931 年第一个配制出用于商业的静脉溶液。然而直至 20 世纪中期，注射剂及注射给药才被接受且成为主要治疗方法。这部分归因于我们对细菌和病毒药物理解的加深，对由于注射给药引起的危险性的认识，以及抗生素和其他类药物的发展和新的系统及输入技术的出现。在 20 世纪 60 年代中期，许多医院引进了静脉混合注射服务。在过去的 20 年里，输注泵与输液系统的扩大使用及改良的注射设备，使注射给药治疗方法不仅限于专门机构和诊所，急救中心及家庭护理也可使用。此外，注射给药的药物也经常在动物和人身上进行基础和临床研究。

在当今的医疗环境下，注射产品已是住院患者治疗的主要部分。大多数住院患者在某些治疗中均要接受经血管途径的注射给药治疗。关于注射产品在如今医疗中的使用的数据非常少。据说，有 40%的药物剂型是注射给药，在 20 世纪 80 年代末[3]，每年使用超过 3.5 亿单位的大体积输液和 1 亿单位的静脉混合物。随着新的药物和输注方法的出现，这些数字肯定增加了。在美国家庭保健治疗中，输液疗法将继续有强大的市场。在 1982～1993 年，家庭使用输液疗法每年的增长率在下降，而 29%的急救医院却提供家庭保健治疗或正在发展家庭保健治疗计划。在现有的市场中，家庭输液疗法正在被合并到其他的部分，如流动医疗站[4]。由于注射给药的使用迅速增加，对提供保健治疗的人员和科学家来说，了解各种现有的剂型、特殊产品、给药途径、导管类型和各种各样的输液设备是至关重要的。这些设备的详细信息在与护理和药学有关的文献中可以找到[3,5～10]。此外，公司网站是当前有价值的信息来源，包括现有的注射给药产品、输液器具和接口、装置和注入泵。全球有用的网址列于表 1 中。

表 1 代表性注射制剂和装置的网址

公 司	网 站	产 品
Abbott Laboratories	http://www.abbott.com	预混合物，静脉注射剂——Lifecare 可注射的给药系统，无针系统，输液泵，Add-Vantage
Alaris Medical Systems	http://www.alarismed.com	输液泵系统，救护泵，无针系统，静脉给药装置
Arrow International Critical Care Products	http://www.arrowintl.com	血管输入装置，导管，输液端口
Bard Access Systems	http://www.bardaccess.com	输入系统与端口

续表

公　司	网　站	产　品
B. Braun Medical	http://www.bbraunusa.com	静脉注射剂——Excel 或 PAB（部分附加包），静脉给药，无针注射，输液泵系统，血管输入装置
Baxa	http://www.baxa.com	静脉注射混合器，注射器系统
Baxter Healthcare	http://www.baxter.com	大容量和小容量的注射剂，预混合物给药，重混产品和附加物，注射泵和装置，连接器，给药装置，输液泵
Becton, Dickinson and Company	http://www.bd.com	注射针，血管输入装置，无针系统，导管
Cook Endovascular	http://www.cook-inc.com	注射管，输液导管和装置
Horizon Medical Products	http://www.hmpvascular.com	注射管端口
I-Flow Corporation	http://www.i-flowcorp.com/home.html	家用输液泵系统，电子输液泵
SIMS Deltec	http://www.deltec.com	插入系统和端口，输液泵
Vygon USA	http://www.vygonusa.com	血管输入装置，无针途径

表 2　注射药物及给药方式的优缺点

优　点	缺　点
适用于无法口服药物的患者	价格昂贵，成本高
适用于要求起效迅速的药物（主要通过静脉注射）	可引起注射部位感染
适用于紧急情况	可引起静脉血栓炎
适用于持续给药（如植入、肌肉库储注射）	液体过量，气泡栓塞
可用于患者自己给药（如皮下注射）	可引起液体外渗
适用于在消化道失活或对肝的首过效应敏感的药物	可造成患者精神上的痛苦，配制和给药时需要专门的器械、装置和专业技术
适用于供药物直接进入组织（靶向给药）	可引起注射疼痛，可引起注射部位的组织损伤
适用于输液、电解质和营养液（患者全静脉营养）	存在针刺损伤和护理人员与血液病原体接触的危险
通过药动技术用静脉注射或输液达到精确给药	由于长时期使用注射装置，使发病率增加
可在医院、急救中心和家庭使用	对注射针头、注射器和其他输液设备使用后的管理

注射给药的优、缺点

注射给药的优、缺点见表 2。一般来说，注射给药的优点是有迅速和可靠的药物全身效应、可长时间给药和靶向药物传递。注射给药的缺点主要有组织感染、血栓形成、组织损伤和（或）注射疼痛等。此外，还需要有特殊的仪器、装置和技术。

给药途径

注射给药的途径如图 1 所示。通常使用最多的途径是静脉、肌内、皮下和皮内注射。作用于中枢神经系统的配方中应不含防腐剂。对于肌内、皮下和皮内给药，通常有一个注射器及注射针就行了。对于静脉内和动脉内给药，必须使用血管输入或接口装置。其他的注射给药途径（如硬膜外、关节内和膜内给药）经常需要特殊的输送装置。在某些情况下，特殊药物由于剂量或药物的理化性质等因素，还需要利用专门的输送装置，如硝酸甘油。

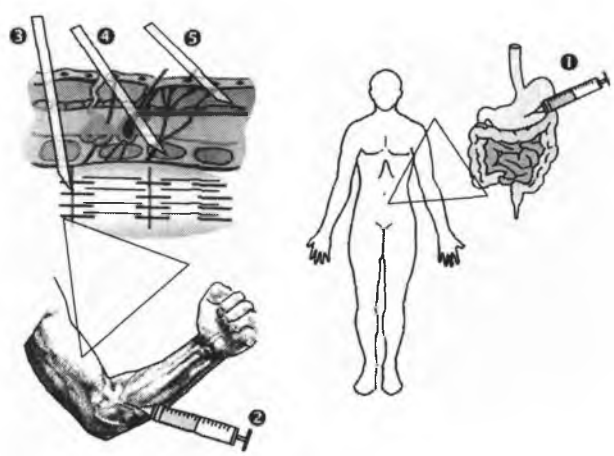


图 1　注射给药的途径。注射给药产品常用的几种途径有：①腹膜内；②静脉内；③肌内；④皮下；⑤皮内

Z

血管输入装置和输液器具

血管途径的输入可通过外围短装置、长留滞外围装置、中央线（central line）以及接口实现[8,11]。这些装置在它们的插入、特性、留滞时间、用法和安全性方面存在不同。在外周途径中，通常注射手和手臂的末梢静脉。手臂的上臂大静脉和头静脉是外周输液最常用的位置。另外，也可利用掌部的静脉。基本装置是带翼的输注装置或导管针，针的尺寸为16～26G，最常用的是20G或22G。这些导管通常仅使用48h。中线导管通常插入大静脉，可以用2～4个星期（Richardson）。外围插入中央静脉导管（PICC）可用于长期输入治疗，使用期可长达一年。这些装置插入周边静脉且穿入，使导管的顶端进入中央血管系统。中央静脉导管（CVC）插入到锁骨下或颈静脉并穿入直到顶端位于上腔静脉。中央静脉导管的类型有非坑道式、Groshong、Hickman和Brovaic等。非坑道式的中央静脉导管可以在病床上插入，而Groshong、Hickman和Brovaic类型的导管则需要用外科手术插入。血管输入端口（VAP）是另外一种进入中央静脉的方法。这些装置经常通过外科手术植入到胸壁或手臂的皮下组织中，由坚硬的带有自密封橡胶隔片的储库组成，导管的顶端位于中央静脉。药物通过注射进入储库中，VAP允许药物重复和间断地输入（有一些达到2000次），这主要依赖于针的大小。这些端口包括SIMS Deltec公司的P. A. S Port®、Cook Incorporated公司的Vital-Port®和Bard Medical Division公司的BardPort®及Cath-Link®。

静脉给药的基本类型有三种：①初级装置；②二级装置；③容积控制装置（图2）[8]。这些装置的基本组成包括穿刺针（插入袋子或瓶中）、滴注室和滴注孔、输液管［长度为160～250cm（63～98.58in）］、一个滚动夹或其他控制管流量的装置、用于其他组分输液的Y形三通、在线过滤器（从0.2～170μm）和用于连接血管输入装置的Luek-loch接头。

初级输液器是利用重力原理从容器瓶输送液体。如果还需要另外注射，可以把二级装置通过Y形接口与初级装置连接起来。容量控制装置是通过一个容量控制室注射少量液体。一般的输液器可分为10～20滴/mL的大滴输液器和较慢速度的60滴/mL的小滴输液器。

注射产品的类型

根据注射产品的体积大小，一般可分为两类。所有的注射产品应经过灭菌，并且必须满足无菌和无异物的要求，同时必须无热原[3,6]。为了达到这些标准，在药物制备时，必须在有严格的卫生标准控制的区域内由经过培训的人员来操作。注射剂灌装时一般加入稍微多于标示体积的量，这样可以保证得到需要的药物的体积。小容量注射剂（small-volume parenterals，SVP）或其容量在100mL或以下，作为单剂量或多剂量的产品供应。相反，大容量注射剂（large-volume parenteral，LVP）则是作为单剂量的静脉注射，容量大于100mL。在临时制备混合静脉注射剂时，SVP和LVP常常混合使用，这将在本章的后面部分进行讨论。

《美国药典》（USP）将注射剂分为五种不同类型。对特殊药物的剂型选择取决于该药物分子的特性（如药物在溶液中的稳定性、溶解度、可注射性等）、药物的预期效果（如立即释放和持续释放）以及预期的给药途径。溶液和一些能与血液混合的乳剂可通过大多数的注射给药途径进行注射。混悬液和不易与血液混溶的溶液（如使用亲油辅料的注射液）可通过肌内注射或皮下注射，而不能通过静脉注射。

注射剂中含有的添加剂包括缓冲剂、溶剂、非水溶剂、抗微生物的防腐剂、抗氧化剂和螯合剂。注射剂中不能含有着色剂。所有的添加剂必须符合注射标准且不影响药物的功效（这将在本章的后面部分详细讨论）。注射剂的包装是用特殊的、质地优良的材料制成的密封容器，它们不会与药物发生作用，同时能保证产品无菌，如在专论里面提到的用于特定注射剂的玻璃种类。SVP和LVP的包装和容器将在文章的后面详细讨论。

SVP对于大多数治疗类型的药物都适用。通常，厂商对于某特定药物要同时生产口服和注射用两种剂型。药物注射剂是由药物和（或）溶剂组成的液体制剂。注射用药物是添加了适当辅料（通常是药物能在其中溶解和稳定的辅料）的干燥固体，溶解以后，能够符合注射剂要求。注射用药物常常经过冷冻干燥以利于形成的固体能够重新复溶。注射用乳剂是将药物溶解在适当的乳化剂中的液体制剂。混悬型注射剂是固体药物混悬于适当介质中的液体制剂。注射用混悬剂通常是指冻干的固体，加入合适的液体介质以后，可以制成各方面均符合要求的混悬型注射剂。

LVP通常通过单剂量大容器进行静脉输液。这些产品的治疗目标是提供电解质、体液和营养物质。这些溶液可能与也可能不与血液等渗，取决于以下物质的浓度，包括氯化钠、葡萄糖、甘露醇、林格氏溶液（钠离子、钾离子、钙离子、氯离子）、乳酸林格氏溶液（钙、钾、钠和乳酸）、碳酸氢钠、氯化铵、乳酸钠、果糖、乙醇、右旋糖酐和氨基酸。其他药物（小容量注射剂）在临时制备静脉混合剂时，常常与LVP混合，但这两种药物必须能相互兼容，详细内容后面会介绍。

注射产品的组成

注射产品在开发过程中是经过优化的，以便提供每剂量所需的溶解性、稳定性、通针性。此外，这些产品必须符合基于剂型以及生物制药学特征的药物释放速率的要求。最后，对于注射产品可能会引起与注射剂处方有关的组织损伤和（或）疼痛的评价也是非常重要的。注射产品的添加剂包括溶剂、辅料、助溶剂、缓冲液、防腐剂、抗氧剂、惰性

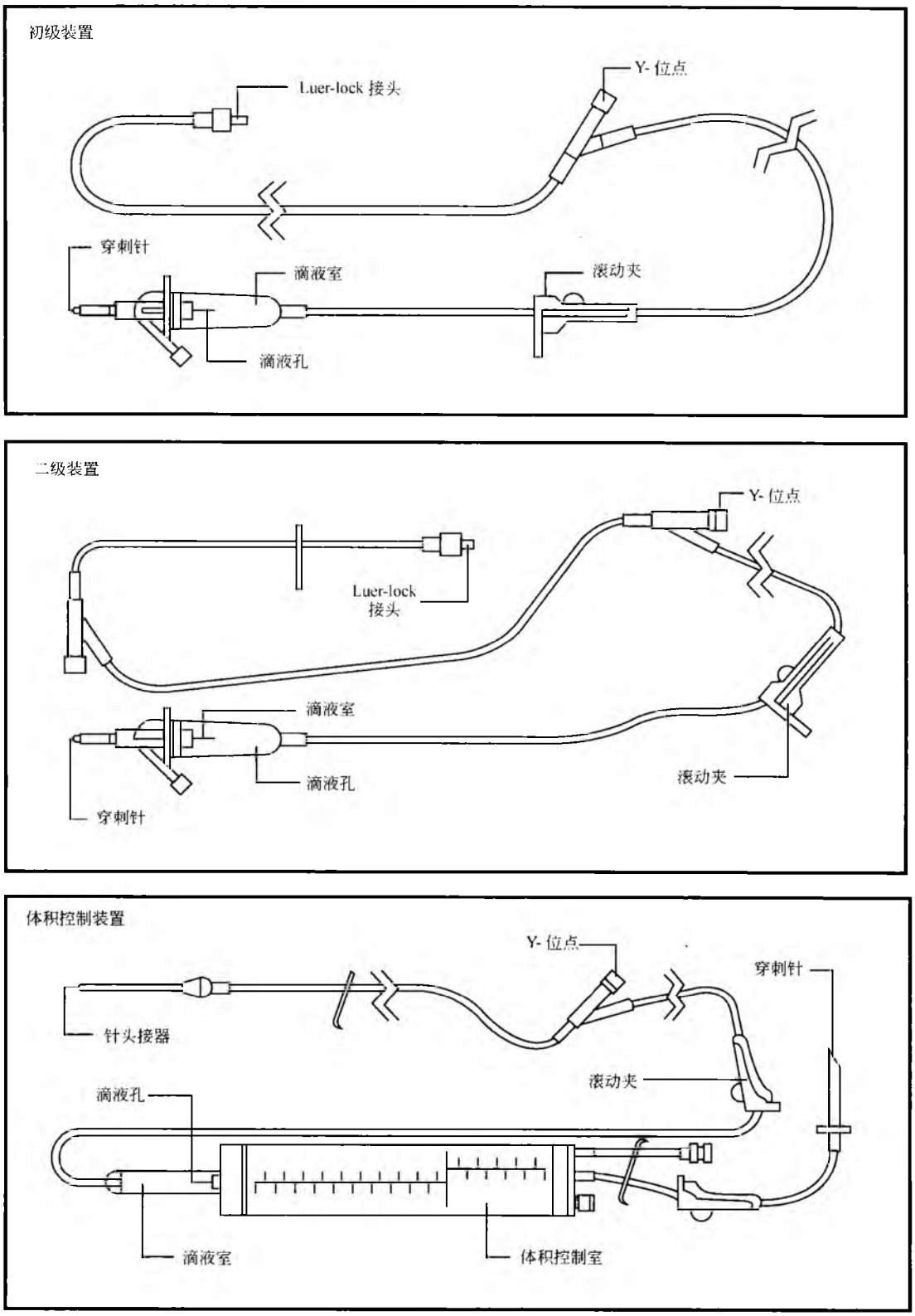


图 2　注射治疗的输液装置：初级装置、二级装置和容积控制输液装置

气体、表面活性剂、络合剂和螯合剂等。

了解注射产品的各种用水也很重要。注射产品中最常使用的溶剂为 USP 注射用水，它没有要求注射用水无菌但必须无热原。与此相反，对于 USP 灭菌注射用水，则要求是经过灭菌操作且不含防腐剂、抗菌剂，无热原，装于不大于 1000mL 的单独容器中。这种注射用水在多数情况下可直接用于大多数抗生素注射剂的配制。此产品不能单独使用。USP 制菌注射用水，是指无菌水可以包含一种或多种防腐剂、抗菌剂（标签上要详细说明），而且预先装于不大于 30mL 的注射器或西林瓶中，也是用于 SVP 的配制。USP 限制制菌注射用水的使用，由于存在抗菌剂而不能用于新生儿。其他用于注射制剂的溶剂有氯化钠注射液（USP）、制菌氯化钠注射液（USP）、林格氏注射液（USP）、乳酸林格氏注射液（USP）。

药物的水溶性不足，也可加入其他的介质。但是，这些介质必须是无毒的、无致敏性的、无刺激性的[3,6]。此外，这些溶剂必须与制剂中药物和其他组分相容。注射产品常用的助溶剂包括丙二醇、乙醇、聚乙二醇、甘油、二甲基乙酰胺。此外，固化植物油，如花生油、棉籽油、芝麻油、蓖麻油也可使用。可是 USP 对于它们在注射剂中的使用有严格的限制。

出于对溶解性和（或）稳定性的考虑，缓冲液也可用于注射制剂以保证所需要的 pH。其他赋形剂包括防腐剂（如苯甲醇、尼泊金乙酯、苯酚）、抗氧化剂（如抗坏血酸、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、半胱氨酸、丁基羟基茴香醚）、表面活性剂（如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯）、乳化剂（如聚山梨酯）。惰性气体（如氮气）也可以用来提高药物稳定性。通过加入络合剂和螯合剂也可以增加药物的溶解性和稳定性，如乙二胺四乙酸盐。要想更详细地了解已批准的用于注射剂的辅料清单，可以参考 USP 的有关专著。

注射剂包装

一般来说，所有注射产品的制备必须符合严格的现行药品生产质量管理规范（cGMP），以确保最终产品无菌和无热原。灭菌的定义是杀灭或除去所有存活生物体或其芽孢[5]。制剂产品的灭菌方法有蒸气灭菌、干热灭菌、过滤灭菌、气体灭菌和离子-辐射灭菌。USP 有验证灭菌过程有效性的生物指示剂的专著和标准。这些产品还必须检测热原，即引起人体致热反应的物质，它源于微生物污染，最有可能是细菌细胞膜外的内毒素或脂多糖。

注射剂有多剂量容器或单剂量容器。多剂量容器通常是西林瓶，在多次抽取内容物后产品的浓度不变并保持无菌。单剂量产品用于单次注射用药。这些产品可以是安瓿、西林瓶或是注射器。对于某些药物，还有含有复溶溶剂和药物粉末的特殊双室西林瓶（如将在后面讨论的 Mix-O-Vial）。注射产品要求的玻璃类型为 I、II 和 III，将在个别专论中针对特定药物做说明。

安瓿作为单剂量使用，因此不需要加防腐剂。然而，在许多情况下，厂商都会加入防腐剂，因为安瓿和多剂量的西林瓶的药物处方都是一样的。安瓿的缺点是，在打开时会被玻璃屑污染，并需要用注射器从中吸取药物溶液。有时候，如在吸取溶剂或把药物溶液转移到输液袋或其他静脉注射溶液中时，要用过滤针头以确保除去玻璃屑。在预先做好记号的部位敲击瓶颈从而打开安瓿。

西林瓶用于单剂量或多剂量。玻璃容器用胶塞密封，可用注射器吸取药物溶液。西林瓶的缺点是必须确保药物溶液与胶塞兼容。此外，当使用西林瓶临时配制用于无菌静脉用混合物时，医护人员在用注射针穿过胶塞时应尽量避免橡胶穿孔脱屑，而且反复抽取溶液时易产生溶液污染，使用单剂量西林瓶可以减少可能产生的污染。

注射溶液也可装于注射器中作为单剂量使用。因此，可以认为它是一种方便的容器（将在后面讨论）。注射器和针头在开启前必须保持无菌。它特别适用于紧急情况或家庭护理。

LVP 常用玻璃容器、塑料软袋或半刚性容器。这些系统分为开放系统（非真空）和封闭系统（真空）。LVP 最大的制造商是 Abbott Laboratories、Baxter Healthcare Corporation 和 B. Braun。

玻璃容器由厚的橡胶盖密封，橡胶盖中心有供穿刺的部位。玻璃瓶分为有塑料通气管和无通气管两种类型，因此必须有各自的给药装置。玻璃容器与塑料软袋相比，其优点是易于消毒和计量，惰性，很少与药物发生不相容或无组分渗出。其缺点是玻璃瓶操作不便，容易破损[10]。

静脉注射液塑料容器最早用于将士兵从战场或伤病员站运送到医院时中途的静脉注射治疗。这些容器都因存在增塑剂而比较柔软，袋子由聚氯乙烯制成。与此相反，半刚性容器通常由聚烯烃制得。图 3 展示了各种不同类型容器的典型外观。最多见的静脉溶液制造商有 Abbott Laboratories- Lifecare、Baxter Healthcare-Viaflex 和 B. Braun Medical-Excel。塑料袋的主要优点是不需要通气装置，无内容物时可收缩，不太容易破损，也更容易储存和运输。其缺点是，药物与袋的成分可能不相容（见后面的讨论），可能在使用的过程中因穿孔而影响溶液的无菌性，以及难以看清袋内残留液的体积。对于塑料软袋的使用还有一个很大的顾虑就是药物将袋中的增塑剂溶出。半刚性容器与弹性塑料袋相似，它们都是轻质、不易破损、容易储存和运输。半刚性容器在使用的过程中不易穿孔。更重要的是，这些容器中不含增塑剂，因此它与药物有更好的相容性。其缺点与玻璃容器相似，它们需要排气孔，在温度剧烈变化的情况下更容易破裂，不能冻结，不能很好地适应流动急救治疗。

便利系统与无针系统

静脉注射剂的预混合和给药对于住院患者和家庭护理患者仍然是一个关键和重要的环节。为了使这类产品的制备、储存、用药更方便，并且能控制成品免受污染，保护

医护人员免于针刺受伤，相关的研究一直受到关注。据估计，每年发生 75 万起针刺损伤事件。常用的便利和（或）无针系统包括预混剂、塑料袋、西林瓶系统（如 Add-Vantage 和 Mini-Bag Plus®）、预装注射器系统（Abbott 公司的 Carpuject® 和 Wyeth-Ayerst 公司的 Tubex®）、双室青霉素瓶系统（Upjohn 公司的 Mix-O-Vial-Pharmacia 和 Lilly 公司的 RediVial®）。

对于在静脉注射溶液中有适当稳定性的药物，预混合物可以替代临时配制。这些产品可随时应用，从而可以减少治疗失误，减少潜在感染，并减少针刺受伤。此外，还有一个使用这些产品的好处是有关产品的保存期。每种产品的稳定性和储存要求由各厂商提供。例如，Abbott 公司的预混产品 Firstchoice® 在外包装上有保存期限，一般是 18 个月，而这些产品如果外包装被拆除，在没有其他药物或添加剂的情况下，可在室温下稳定存放长达 30 天。这些预混产品的稀释剂包括 0.45% 或 0.9% 的氯化钠、5% 葡萄糖、注射用水、乳酸林格氏液，将这些稀释剂在容量为 50～1000mL 的塑料容器或玻璃容器中混合。目前，预混合物的药物种类包括氨基酸、葡聚糖、电解质、心血管药物、抗感染药物、镇痛药物、胃肠道药物和呼吸道药物。

Abbott Laboratories 公司的 Add-Vantage® 系统和 Baxter Healthcare 公司的 Mini-Bag Plus® 系统的产品为无针药物传递系统，由含药西林瓶和有稀释剂的静脉用塑料软袋组成。这种类型的系统示意图如图 3（b）所示。当瓶中的药物与稀释剂接触后，药物随之转移至塑料袋内而小瓶仍然附在袋子上面，这一系统可直接装在输液装置上。在 Add-Vantage® 系统中，有专门的西林瓶和静脉袋，医护人员必须去除西林瓶塞使稀释剂进入瓶内才能启动系统。Mini-Bag Plus® 系统的设计，可以允许标准的 20mL 粉末药品瓶进行简单复溶。Becton Dickinson 公司的 Monovial Safety Guard® 是一个集成的自装系统，可以使重混溶液从静脉弹性袋或瓶中转移到含药的西林瓶中，它只局限于某些药物。

因此，这种系统的好处是，产品易于储存，制备迅速并无须计算和专门的装置（如层流）或针头和针筒，而且使首剂量的回旋时间更快。这些产品不仅通过减少治疗失误（例如，错误的药物装瓶、装入袋中的药量不正确或产品贴错标签），提高了患者的安全性，并且可以尽量避免医护人员针刺受伤。此外，这些产品有助于降低成本，将尚未用过的但包装已拆除的产品在短期内再发出去。目前，各种治疗药物，从抗感染药到心血管药，再到控制疼痛药物的各种剂量，都可以在含 0.9% 或 0.45% 氯化钠或 5% 葡萄糖的 50～250mL 的袋中重混。

预装注射器，如 Abbott Laboratories 公司的 Carpuject® 和 Wyeth-Ayerst 公司的 Tubex®，是将药物溶液置于有针和无针注射器中。这种系统的优点是剂量标准，减少了由临时混合造成的治疗失误，便于在紧急情况下使用以及便于储存。注射器和针头在开启前保持无菌。预装注射器适用的药品有抗感染药、止痛药、抗精神病药以及止吐药。

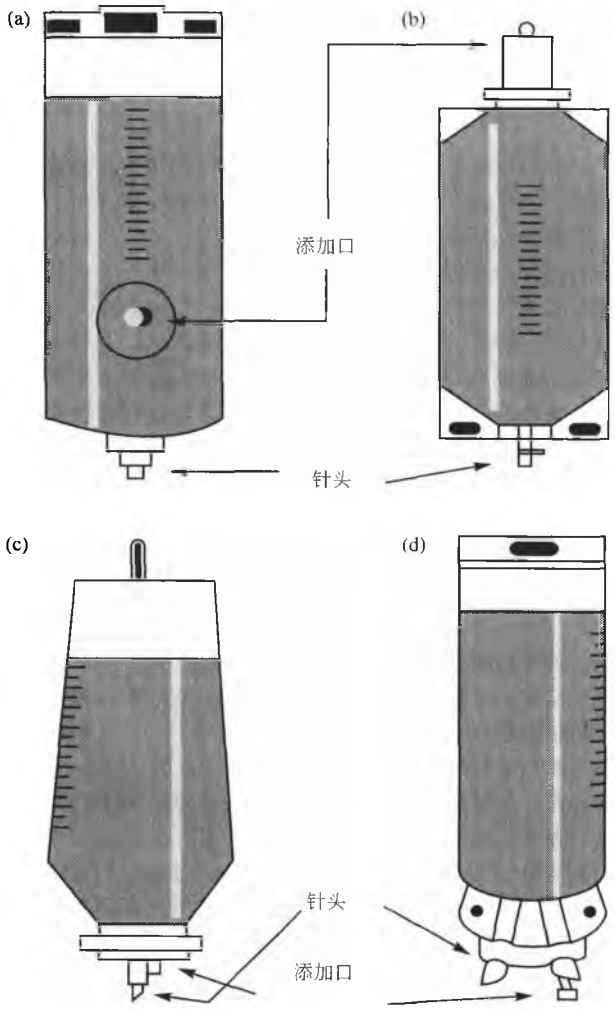


图 3 大容量注射剂的类型。它们代表各种不同的柔性袋装静脉注射品：(a) Abbott Laboratories 公司研制的 Lifecare®；(b) 代表小型柔软的静脉注射系统，如 Abbott Laboratories 公司的 Add-Vantage® 或 Baxter Healthcare 公司的 Mini-Bag Plus System®；(c) B. Braun Medical 公司的 Excel®；(d) Baxter Healthcare 公司的 Viaflex®。这些包装袋含有氯聚乙烯（Lifecare 或 Viaflex）或聚烯烃（Excel）

双室小瓶的优点在于将重混溶液与药物隔开，临用时由医护人员将其混合。Pharmacia-Upjohn 公司的 Mix-O-Vial® 系统是下层为粉状或冻干药物，上层为含防腐剂或其他活性成分的稀释剂。在去掉覆盖并加压于顶部活塞后，药物与溶液接触，振摇小瓶直到获得所需溶液。然后，上层活塞用消毒液拭抹，按照使用小瓶配制静脉用混合物一样，将一定体积的药物抽出。

随着越来越多的人关注于消除注射药物时给医护人员带来的伤害，无针系统在患者护理方面的使用越来越普遍。例如，Baxter 公司的 Interlink® 系统的设计是用于静脉注射治疗的无针给药。这类产品适用于注射接口、Y 接口、西林瓶接头、输液管、注射器和导管。其他无针导管和输液

装置包括 B. Braun 公司的 Introcan®（安全静脉导管）和 Sifesite®（注射帽）。

无针注射

无针注射并非新的概念，从 20 世纪 40 年代起就开始设想。目前的产品都利用弹簧作用或压缩气体（如氦气或二氧化碳）作为药物透过皮肤的推动力。无针注射系统有下列优点：第一个潜在优点是减少疼痛和焦急，比较适合用于儿童；第二个是无针注射比常规针造成较少组织损伤[12]；最后，无针注射系统可形成扩散形式，从而增加吸收面积和吸收速率[12]。这个系统的主要缺点是其不可靠性。这种不可靠性是由于疼痛、不适合皮肤的特性而影响进入体内药量[12]。此系统已经用于疫苗、胰岛素[12]和局部用药（如阴茎勃起功能障碍）[13]以及作为在基因治疗中传输 DNA 的一种手段[14]。

注射产品的临时混合

由于各种方便注射产品的存在，医护人员可以对患者能更安全、准确地给药，因而注射剂的临时混药成为在医疗机构和家庭保健中一个重要组成部分[3,5,15]。静脉注射混合物包括将药液从安瓿或小瓶中抽出并置入各种大体积的溶液、注射剂、全营养注射溶液或其他作为家庭保健的给药系统。美国卫生系统药剂师联合会、全国医院药房协会和 USP 为从业者提供有关制备注射产品有用的技术指导报告、规则和标准[13]。对于临时制备注射产品需要考虑的是通过适当的无菌技术保持产品无菌，计算并提供正确剂量，防止或减少产品在制备或给药过程中药物与药物、药物与溶剂或药物与容器的相互作用，以及维持药物的稳定性并提供质量控制。

大多数临时注射产品都由医院、家庭护理或长期护理机构的药剂师来制备。这些产品的制备必须使用无菌技术，并利用适当的用品（如针筒、针头、过滤针筒、帽子）及设备（在一万级洁净室内的 100 级层流气罩）。无菌技术不同于灭菌，其过程由一个人操作无菌的产品和容器以防止微生物污染。参与注射产品临时制备的药剂师和其他人员需要有专业知识和经过培训，并在常规操作的基础上经常接受额外培训和指导，以保证采用正规的无菌技术。此外，这些人必须能掌握在制备静脉用混合物时所必需的计算，如剂量、毫当量、毫渗量、测定粉末体积。与安全制备静脉用混合物同样重要的是要懂得药物与溶液或容器的不相容性及药物稳定性的一般原则和概念，并且掌握某一特定药物能否与另一种药物、溶液或容器兼容或保持稳定的专业知识。举例来说，有关静脉用混合物不相容性的一般和专门论述可见于书籍，如 *Handbook on Injectable Drugs*[16,17]、*King Guide to Parenteral Admixtures*[18]以及原始资料源，如 *the American Journal of Health-System Pharmacy* 和 *the International Journal of Pharmaceutical Compounding*。

输液泵和输液装置

输液泵和输液装置是注射药物输送的基本构成部分，尤其是在静脉给药时。静脉输药有两种动力控制药液的流动：①由重力形成的液体压力（流体静压）或正压泵的机械力；②由输液装置和（或）血管形成的阻力。最大流速则取决于流体静压的变化与阻力变化的比率。

输液控制装置（ICD）是一种在重力流系统（控制器）或正压泵的作用下使注入速度保持恒定的装置。正压泵能提供机械压力（2～12psi，1psi＝6.894 76×10^3Pa，下同）来克服在脉管中流动的阻力。正压泵可以按其传输溶液的方式和控制流速的准确程度来进行分类。正压泵包括蠕动泵、盒式泵、柱塞泵、非电源或一次性泵、患者自控镇痛泵（PCA）。柱塞泵通常是最准确的泵，其流量变化在 2% 或更少；非电源或一次性泵和 PCA 泵在救护车中很有用；PCA 泵非常适合镇痛药的注射给药（如吗啡），并且很容易设定用于突击给药和提供用药记录；非电源或一次性泵（如 I-Flow 公司的 Homepump®，Alaris 医疗系统的 Ready-med®，ProMed 公司的 Smart-Dose®）质量轻，溶液是通过在系统中的真空或是产生的气体而传送。在最近的一个关于静脉给药系统使用的安全性、成本、简单易用性和培训的共识发展会议上，其重点在于急救和非电源装置，回顾了厂家预制品（如预先混合、冷冻产品）、即时激活系统（厂家预制品，要求药物和稀释剂在治疗的时候混合）；基于药房的静脉混合产品、静脉推注药物的非预装的或预装的注射器，促进的静脉推注系统（注射泵）和体积控制室[19]。厂家的预制品、即时激活系统和基于药房的静注混合产品被认为是较好的静脉给药系统，由于此类产品在制备中的质量保证，故认为其是最安全的系统。

今后的注射给药剂型

当前的研究致力于新的注射给药剂型，这类剂型同时有利于速释和缓释药物传递系统，有利于全身和靶向药物传递系统，也有利于小分子和大分子的传递（如蛋白质、肽和 DNA）。对于研究各种特殊的注射用药物传递系统的兴趣正在加大，其中包括脂质体或其他磷脂小泡、微球、微囊、纳米粒或微乳[20～23]。新的生物材料发展，如线性和有支链的生物可降解聚酯，增加了人们研制注射微球制剂系统的兴趣[24,25]。其优点是将药物分子置于这些特定载体中可以调节此类药物的释放速率，并易于被细胞摄取，或者是能减少组织损伤或疼痛。

微乳是指将粗的水包油乳剂与中等链长的醇碾磨而得的透明溶液，并由非极性相、表面活性剂和辅表面活性剂构成，对注射给药有潜在的好处。因为它们是透明且稳定的制剂可以进行过滤，可能适宜于静脉给药[21,22]。除此之外，一些研究人员正在研究容易肌内或皮下注射的原位形

成凝胶或植入物，注射后在注射部位形成药物储库，并可改良或延长药物或大分子的释放[25~27]。

结论

对不能口服给药、为了配合治疗疗效必须严格控制药物血液水平、为了延长疗效需要通过长时间注射，或者当药物效应需要靶向于某一特定组织或器官等时，注射产品将继续充当治疗患者的一个重要角色。随着过去100年里注射剂型的进展，其在住院患者和院外患者上的临床用途不断扩展。另外，对那些制备和使用这些产品的医疗服务者提供了更多的方便和安全。随着由生物技术开发的药物的出现，必将导致更多的注射给药剂型在市场中出现。

参考文献

1. General Requirements for Tests and Assays. The United States Pharmacopeia, The National Formulary; US Pharmacopeial Convention, Inc.; Rockville, MD, 1995; 1775－1777.
2. Swarbrick, J.. Boylan, J. C., Eds. Dosage Forms: Parenteral. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1988; 231－247.
3. Turco, S. Sterile Dosage Forms: Their Preparation and Clinical Application; Lea & Febiger: Philadelphia, PA, 1994.
4. Monk-Tutor, Ma. R. The U. S. Home Infusion Market. Am. J. Health-Syst. Pharm. 1998, 55, 2019－2025.
5. Thompson, J. E. A Practical Guide to Contemporary Pharmacy Practice; Williams & Wilkins; Baltimore, MD, 1998; 32. 1－32. 21.
6. Ansel, H. C.; Allen, L. V.; Popovich, N. G. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System, 7th Ed.; Lippincott, Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, 1999; 397－449.
7. Avis, K. E.; Miller, W. A.; Phillips, G. B. Dispensing of Medication, 8th Ed.; Hoover, J. E., Ed.; Mack Publishing Co.; Easton, PA, 1976; 255－295.
8. Doyle, R. M., Nale, P. Eds.; Handbook of Infusion Therapy Springhouse Corporation; Springhouse, PA, 1999.
9. Andrews, M.; Kaplan, H.; Weinstock, D. L.; Wittig, P. A. Nurses Handbook of Home Infusion Therapy; Springhouse HomeCare; Springhouse, PA, 1997.
10. Terry, J.; Baranowski, L.; Lonsway, R. A.; Hedrick, C. E. Intravenous Therapy Clinical Principles and Practice; W. B. Saunders Co.; Philadelphia, PA, 1995.
11. Moureau, N. Vascular Access with a Focus on Safety. Infusion 1999, 6, 16－26.
12. Baker, A. B.; Sanders, J. E. Fluid Mechanics Analysis of a Spring-Loaded Jet Injector. IEEE Trans. Biomed. Engineer 1999, 46, 235－242.
13. Seyam, R. M.; Begin, L. R.; Tu, L. M.; Diona, S. B.; Merlin, S. L.; Brock, G. B. Evaluation of a No-Needle Penile Injector: A Preliminary Study of Evaluation Tissue Penetration and its Hemodynamic Consequences in the Rat. Urology 1997, 50, 994－998.
14. Furth, P. A.; Shamay, A.; Hennighausen, L. Gene Transfer into Mammalian Cells by Jet Injection. 1995, 14, 149－152.
15. Allen, L. The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding; American Pharmaceutical Association; Washington, DC, 1998; 251－264.
16. Trissel, L. A. Handbook on Injectable Drugs, 10th Ed.; American Society of Health System Pharmacists; Bethesda, MD, 1998.
17. Trissel, L. A. Handbook on Injectable Drugs; American Society of Health System Pharmacists; Bethesda, MD, 1999; Supplement.
18. Catania, P. N. King Guide to Parenteral Admixtures; King Guide Publications; Napa, CA.
19. Bates, D. W.; Dugger, B. H.; Gosbee, J. W.; Schneider, P. J.; Cousins, D. D.; Flynn, E.; Richason, L. Safety of Intravenous Drug Delivery Systems, Consensus Development Conference on the Safety of Intravenous Drug Delivery Systems, Phoenix, AZ, Sept. 17－18, 1999.
20. Morris, R. M.; Cuff, G. W. Particulate Drug Delivery Using Microparticulates. Sterile Pharmaceutical Manufacturing. Applications for the 1990's; Groves, M. J., Olsen, W. P., Anisfeld. M. H., Eds.; Interpharm Press; Buffalo Grove, IL, 1991; 2, 1－42.
21. Lawrence, M. J. Surfactant Microemulsions and Vesicles as Vehicles for Drug Delivery. Eur. J. Drug Met. Pharmacokin 1994, 3, 257－269.
22. Tenjarla, S. Microemulsions: An Overview and Pharmaceutical Applications. Crit. Rev. in Therapeutic Drug Carrier Systems 1999, 16, 461－521.
23. Gupta, P. K.; Brazeau, G. A. Injectable Drug Development: Techniques to Reduce Pain and Irritation; Interpharm Press; Denver, CO, 1999.
24. Breitenbach, A.; Li, Y. X.; Kissel, T. Branched Biodegradable Polyesters for Parenteral Drug Delivery Systems. J. Controlled. Release 2000, 64, 167－178.
25. Jain, R. A.; Rhodes, C. T.; Railkar, A. M.; Malick, A. W.; Shah, N. H. Comparison of Various Injectable Protein-Loaded Biodegradable Poly (Lactide-co-glycolide) (PGLA) Devices: In-Situ Formed Implant Versus In-Situ Formed Microspheres. Pharm. Devel. Technol. 2000, 5, 201－227.

Z

26. Joshi, R.; Robinson, D. H.; Himmelstein, K. J. In Vitro Properties of an In Situ Forming Gel for the Parenteral Delivery of Macromolecular Drugs. Pharm. Devel. Technol. 1999, 4, 515－522.

27. Joshi, R.; Arora. V.; Desjardins. J. P.; Robinson, D.; Himmelstein, K. J.; Iversen, P. L. In Vivo Properties of an In Situ Forming Gel for Parenteral Delivery of Macromolecules. Pharm. Res. 1998, 15, 1189－1195.

（黄 冲 陈 昂 译）

Z

注射剂无菌工艺的病毒灭活问题

J. Hotta
A. Klos
S. Petteway, Jr.
D. Pifat
Bayer Corporation, Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.

引言

血浆来源的治疗用蛋白质是工业规模纯化的注射用生物制剂。所有来源于人的生物制剂，如血浆，都有被病毒污染的风险。为了生产源于人血浆的药品，制造商必须确保产品不被特定病毒污染，因此需要进行病毒验证实验来估计生产工艺去除病毒污染的能力。本章探讨清除病毒的三种不同的最终灭活手段：免疫球蛋白（IgG）的低 pH 培养，白蛋白的巴氏灭活，以及血浆来源产物（凝血 VIII 因子和蛋白质 G）的冷冻干燥（干热）处理。数据表明，与上游病毒清除手段类似，用于最终灭活处理的方法是依赖于加工工艺和产品的，因为病毒验证实验固有的限制或者设计上的不合适，可能会使单个步骤的灭活因子被高估或低估。

注射药不是通过摄取而是通过皮肤直接注射到血管、器官、组织或损伤部位的医药产品。因为注射绕过了人体抗感染的正常防御系统，所以在制备这些药物时需要最高级别的污染控制。可以通过最终灭菌或者无菌加工来防止污染。最终灭菌是在高质量但不必是无菌的环境下灌装产品并密封，只需对装入容器的终产品进行灭菌。在无菌工艺中，需要分别对产品、容器和胶塞进行灭菌，再组装在一起。因为微生物有可能在灌装过程中被无意识地引入到最终产品中，这些操作都必须在严格的条件下进行，以便把微生物污染的危险降到最低（例如，在洁净室环境下操作，执行环境监控程序，以及在无菌技术方面培训操作人员）。

来源于血浆的治疗用蛋白质生物制剂大多数是非常复杂的、对热敏感的蛋白质的混合物，不能最终灭菌因而必须无菌加工。另外，所有人源的生物制品都带有病毒污染的风险，如使用血浆来源的产品可能会感染乙肝和 AIDS。因此，要生产源于人血浆的医学产品，制造商必须确保没有微生物以及特定病毒的污染。

复杂生物制品的病毒污染能通过严格的控制原材料（血浆）和生产工艺而降到最低。原材料的控制包括供体的选择、严格的血浆病毒标记物的测试以及详细目录的保持（图 1）。血浆供体筛选之前需要通过详细的健康问询来鉴定高危因子（如疯牛病的家族史）及特殊行为方式（如刺青），然后是体检以及通过国家供体延缓注册（National Donor Deferral Registry，NDDR）的背景检查。通过血浆除去法（例如，经去除和再回输红细胞、白细胞以及血小板到供体后剩下的清澈的液体）从合格供体采集到的血浆才能利用，而不是被恢复的血浆（即从全血中去除的血浆）。合格供体是那些在六个月以内成功地通过两次供体筛选以及病毒标记物测试的候选者。如果供体不能在六个月以内来献血，以前捐献的血浆就将废弃。测试不合格的血浆也需要丢弃，并且捐献者的姓名要进入 NDDR 全国数据库，该数据库列出了所有要排除的不合格供体。

背景

血浆目录的保存指的是对所有合格供体的血浆保留 60d。如果一个供体在另一次测试中显示出有病毒感染的迹象（如血清转化现象）或者涉及潜在的高危活动，以前从这个供体采集得到的血浆就能在目录中查到并废弃。

所有捐献的血浆都需要通过检测，确定和梅毒、乙肝病毒表面抗原（HBsAg）无反应，以及 HIV 1 型和 2 型、乙肝 C 病毒（HCV）抗体为阴性。许多制造商还利用标准的血清测试法来检测捐献的血浆是否为阴性，或利用核酸增幅技术（NAT）来检测病毒染色体的存在，如 HCV、HIV-1、乙肝 B 病毒（HBV）和细小病毒 B19。和 HCV、HIV-1、乙肝 B 病毒（HBV）反应的 NAT 血浆或者含有高水平细小病毒 B19 DNA 的血浆都需要废弃。

符合 NAT 病毒测试标准的血浆将被储存在制造车间里，并且需要对储存物再次进行测试，确认是否含有相应的病毒指示物（例如，HBsAg、抗 HIV-1/2 和 HCV 抗体以及 HCV RNA）。因而需要对所有原材料进行筛选来降低或者是确认不存在与临床有关的病毒，并且在制造过程中尽可能降低可能发生的病毒污染。

在制造过程中，血浆会被分离成具有不同生理作用的几部分。因为是复杂的蛋白质混合物，不能利用最终灭菌法来灭菌，因此需要严格地控制原材料的来源，整个制造过程必须严格按照现行的生产质量管理规范（cGMP）来进行。生物制品应更多地按制造过程定义，而不是对终产品分析检测，从而保证终产品是纯的、有效的、稳定的、没有微生物感染并且带有较低病毒污染风险的。

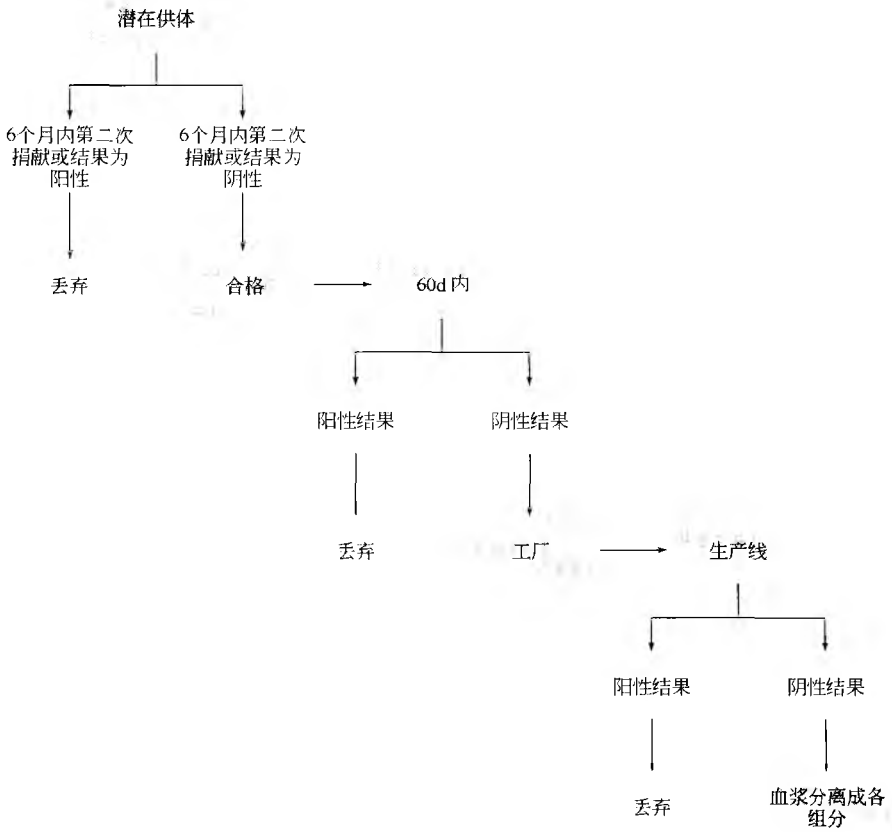


图 1 通过筛选和血浆测试控制原材料

通过病毒验证实验来评估制造过程降低病毒的能力，已经发布了许多法规指南来描述操作过程和解释病毒清除实验[1,2]。在实验过程中，需要向中间产物中加入大量的病毒，并对原材料进行加工，然后比较残留在终产品中和起始材料中的病毒的感染水平，以测定病毒的降低量。工艺验证通常利用和商业规模同样类型和大小的设备来进行。但是，用具有感染性的病毒故意污染制造设备和厂房是不允许的。因此，病毒验证实验通常利用小规模的复制品和加工条件来代表生产规模。

每一个工序降低病毒的能力用对数表示，因为病毒验证实验只能确认通过特定因子加载病毒的降低，并不能保证加载的病毒降低到零。把加载病毒去除（灭活）到低于可检测水平或者降低 $4\log_{10}$，或者更高，可以认为是很有效的了。工序中清除所有加载病毒到可检测水平以下的因子与处理仍然含有感染性病毒的最终步骤的病毒降低因子不同，用“≥”来表示。例如，病毒降低因子≥$3.7\log_{10}$表示在最终部分中没有检测到感染性病毒，并且如果病毒加载量更高的话，病毒的降低有可能比 $3.7\log_{10}$更高。病毒降低参数为 $4.3\log_{10}$代表的是一个工序清除了大部分的病毒，但是仍然有部分残留病毒能够在最终产物中检测到。

制造过程总的病毒降低能力是单个降低因子的总和，并且应该比降低起始原料中加载的病毒的能力更高。至少工艺中的一个步骤应该清除大部分的可感染病毒，从而使总体的清除能力不是由较小的、甚至可以忽略的单个降低效果组成。

病毒能力的降低有可能放在整个生产过程的上游或最终。通过灭活病毒或去除病毒颗粒可以降低病毒的感染性。去除不是灭活，而是从目标蛋白质中利用诸如沉淀、层析或者过滤的方法将病毒分离出来。例如，在酒精沉淀工序中，将酒精加入到悬浮液中以沉淀不需要的污染蛋白质和病毒，然后离心含有酒精的悬浮液，以便把糊状沉淀中的污染物从流出的产物中分离出来。

在灭活过程中，病毒的感染性通过化学和（或）物理方法的处理而被降低。病毒颗粒的残留物（例如，病毒核酸）有可能仍然残留在产物中，但是它们不再具有感染性。灭活病毒的化学方法，如用溶剂-表面活性剂或者丙酮处理，必须置于上游，因为需要通过其他的步骤来去除或者降低化学试剂的毒性。通常是利用物理的方法来进行最终灭活，如热和低 pH，因为这些方法没有化学残留。在处理以后，最终产物可应用于患者，因而整个灭活过程必须保持无菌状态，并且灭活病毒的参数必须和保持产物的质量和产率的条件相平衡。

病毒验证实验中病毒的选择

病毒验证实验要解决的主要问题是确定采用什么样的病毒。专利药品委员会（Committee for Proprietary Medicinal Products，CPMP）已经发布了在病毒验证实验中选择病毒的指南[1]。必须验证工艺灭活（去除）相关病毒的能力，以及已知的在生产过程中污染血浆或其他材料的病毒的能力。如果相关病毒不能容易地在细胞培养中繁殖或者鉴定，那么，验证实验应该包含具有和相关病毒特征相似的特定的病毒模型。如果相关病毒并不能代表具有普通物理化学性质的病毒，那么验证实验应该包含具有多种不同性质的非特异性病毒模型。灭活（去除）这些非特异性病毒能够保证在加工过程中清除宽范围的已知和未知病毒。

这里所使用的病毒是 HIV-1、牛血清病毒性痢疾病毒（BVDV）、伪狂犬病毒（PRV）、呼吸道肠道病毒 3 型（Reo）、乙肝 A 病毒（HAV）和猪细小病毒（PPV）。HIV-1 是一种膜病毒，BVDV 和 PRV 已被证实分别是 HCV 和 HBV 的特异性病毒模型（表 1）。Reo 是一种无膜病毒的非特异性病毒模型，HAV 作为一种相关病毒被包含在内，而 PPV 可用做人细小病毒 B19 的代用品。所有病毒都在标准细胞培养下繁殖[3,4]。令病毒以低感染度感染适当的细胞株，进行培养直至观察到 4＋的细胞病变。将感染的细胞冷冻和解冻三次后释放出病毒，通过低速离心去除细胞碎片，取出澄清的上清液作为病毒标样。

表 1　试验用病毒

特性	膜病毒		
	人免疫缺陷病毒（HIV）	牛血清病毒性痢疾病毒（BVDV）	伪狂犬病毒（PRV）
相关或模型株	HIV-1，HIV-2（III B）	HCV Kentucky-22（BRFF）	CMV，EBV，HSV，HBV PRV dl tk（ATCC VR-2074），Becker（Dupunt/Merck）
核酸	RNA	RNA	DNA
包膜	是	是	是
大小/nm	80～130	80～100	120～220
耐理化试剂能力	低	中等	中等

续表

特性	无膜病毒		
	呼吸道肠道病毒 3 型（Reo）	乙肝 A 病毒（HAV）	猪细小病毒（PPV）
相关或模型株	无膜病毒 Abney（ATCC VR 232）	HAV HM175 18f（ATCC）	人细小病毒 B19 N ADL-2(ATCC VR 742）
核酸	RNA	RNA	RNA
包膜	无	无	无
大小/nm	60～80	27～32	18～28
耐理化试剂能力	高	很高	很高

1. 最终灭活手段：IgG 的低 pH 最终容器内孵育

虽然利用酒精分离时，病毒的分配和中性化抗体的存在被认为是影响免疫球蛋白安全性的主要因素[5]，但已有报道通过静脉注射免疫球蛋白（IVIg）可感染 HCV[6]。许多 IgG 制剂配方时的 pH 较低，低 pH 孵育最初是用来稳定 IgG、减低抗补体活性，从而能用于静脉注射的[7,8]。病毒验证实验显示，在低 pH 下孵育也能够灭活大量的膜病毒。

这里讨论的三种人 IgG 产品是从组分 II 和 III 中纯化出来的，加工方法稍有不同，但是三种产品最终的配方都具有相同的处方，即 0.2mol/L 甘氨酸和 pH4.25。它们都是 10％的蛋白质溶液，其中 98％是 IgG，并且单聚体含量均高于 90％。在大生产时，IgG 的最终溶液（pH4.25）是通过无菌过滤，无菌灌装入灭菌的最终容器中，并且在 20～27℃下孵放 21～28d 得到的[9]。在病毒测试中，则是向原料加入病毒并将 pH 调整到 4.3 或 4.5，然后在 5℃、20℃、23℃下孵放 28d。将 Hanks 平衡盐溶液（HBSS）或 IgG 溶液调整到 pH7，也加入病毒和孵放，作为阳性对照。在孵育当天及之后的不同时间点分别取样来测定病毒滴度。

病毒降低的程度和动力学依赖于所测病毒和准确的工艺条件（如 pH、时间和温度）。低 pH、高温和较长孵育时间能灭活更多的病毒，并且 HIV-1 和 PRV 的灭活动力学比 BVDV 快得多。HIV-1 和 PRV 通常在低 pH、20～23℃孵放 14d 以后能降到低于可检测水平，但不同的 IgG 溶液的灭活动力学稍有不同（图 2 和表 2）。完全加载 HIV-1 或 PRV 在 IgG 溶液 1 中比在 IgG 溶液 2 或 3 中灭活得更快。与 pH 以及温度无关，HIV-1 在 IgG 溶液 1 中 21d 以后就检测不到，但是在 IgG 溶液 2 中，pH7 或者 5℃，21d 以后仍然有大量的感染性病毒存在。这可能是 pH（pH4.3 对 pH4.5）、温度（23℃对 20℃）或病毒制备上存在的细小差异导致的。

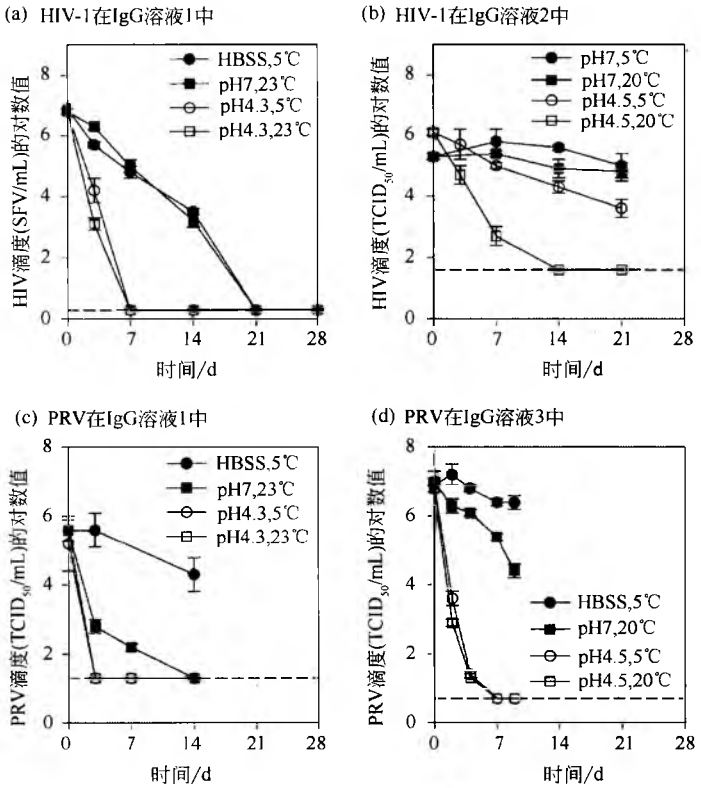


图 2 IgG 溶液在低 pH 放置时病毒的灭活动力学。将 IgG 溶液 pH 调节至 7、4.5 或 4.3，加入病毒，在 5℃、20℃或 23℃放置；HBSS 也加入病毒作为阳性对照。在 0d 和不同的时间点取样测定病毒滴度。IgG 溶液 1：HIV-1［(a)］或 PRV［(c)］，IgG 溶液 2 或溶液 3：HIV-1[(b)]或 PRV[(d)]，没有符号的虚线为病毒检测限

表 2 低 pH 放置的病毒减少总结

测试溶液	pH	log_{10}病毒减少						
		HIV-1[1)]		PRV[2)]		BVDV[3)]		
		5℃	20/ 23℃	5℃	20/ 23℃	5℃	20℃	23℃
HBSS	7	≥6.6		1.2	1.0	1.6		
IgG1	7		≥6.5		≥4.3			<1.0
	4.5						2.6	3.6
	4.3	≥6.5	≥6.5	≥3.9	≥4.3	1.8	4.2	4.2
HBSS	7	na		<1.0		na		
IgG2	7	<1.0	<1.0	<1.0	1.6			1.2
或 IgG3	4.5	2.5	≥4.5	≥6.3	≥6.1		4.1	≥4.1
	4.3					≥4.5	≥4.5	≥4.4

注：na＝不适用；灰色方框表示没有测；IgG1、IgG2 和 IgG3 分别指 IgG 溶液 1、IgG 溶液 2 和 IgG 溶液 3。

1）HIV-1 的 IgG 溶液 1 和 2 试验在不同的时间、不同的病毒储备液和稍微不同的温度下进行。溶液 1 的试验为 28d，放置温度为 5℃和 23℃，滴度单位为 SFG/ml。溶液 2 的试验为 21d，放置温度为 5℃和 20℃，滴度单位为 $TCID_{50}$/mL。

2）PRV 的 IgG 溶液 1 和 3 试验在不同的时间、不同的病毒储备液和稍微不同的温度下进行。溶液 1 的试验为 14d，放置温度为 5℃和 23℃；而溶液 3 的试验为 9d，放置温度为 5℃和 20℃。

3）BVDV 的 IgG 溶液 1 和 3 试验以相同的时间、相同的病毒储备液进行，试验为 28d。

为了控制这些实验间的差异，采用相同的病毒储备液，IgG 溶液 1 和 3 在低 pH 下进行 BVDV 病毒的灭活监控（图 3和表 2）。数据显示，pH 和温度的微小变化能够引起病毒降低上的巨大差异。例如，BVDV 在 IgG 溶液 1、20℃、pH4.3 时降低到 4.2log_{10}，但是在 pH4.5 时仅降低到 2.6log_{10}。

BVDV 的降低也和 IgG 溶液有关。在 IgG 溶液 3 中、pH4.3、5℃孵育 21d 以后没有检测到病毒，但是在同样的条件下，IgG 溶液 1 中，仍然有 4log_{10}的 BVDV 存在。对于 IgG 溶液 1，在 pH4.3、20℃和 23℃时均观察到显著的 BVDV 的降低（4.2log_{10}），但是在 pH4.5 时低于 4log_{10}的病毒被灭活。相反，在 IgG 溶液 3 中，pH4.3 和 pH4.5 时有大量 BVDV 被灭活（高于 4log_{10}），和温度无关。

和其他的研究结果一致的这些结果，同样证明了低 pH 孵育在灭活膜病毒上是有效的。在 pH4.4、35℃孵育 IVIg（6%的蛋白质，8%蔗糖）一个星期，或者在 23℃孵育四个星期，超过 6log_{10}的水疱性口炎病毒（VSV）被灭活[10]。IVIg（8%的蛋白质，16%麦芽糖）在 pH4（在胃蛋白酶存在下）35℃时孵育 22h 能使腮腺炎病毒、塞姆利基森林病毒（SFV）、单纯性疱疹病毒（HSV）以及牛痘病毒降低，但是不能灭活无膜 2 型小儿麻痹症病毒[11]。在 pH4.25（在胃蛋白酶存在下）、37℃孵育 IVIg（7%～8%的蛋白质，

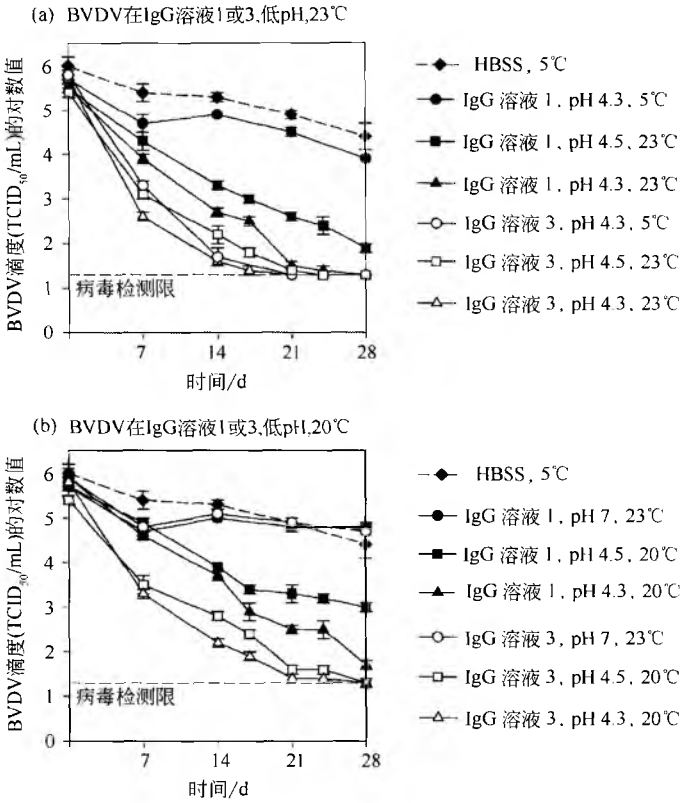


图 3 低 pH 放置的 IgG 溶液 1 和 IgG 溶液 3 在 23℃[(a)]和 20℃[(b)]时的 BVDV 灭活动力学（方法见图 2）

含有葡萄糖的缓冲液），孵育 30min 能够灭活 HIV、PRV 以及 BVDV 至检测限以下[12]。

免疫球蛋白是一种在许多方面和传统合成药物不同的生物制剂，因为对于许多不同类型的 IgG 分子来说，它们没有明确的化学组成，每一个分子具有单独的抗原识别能力。上游加工过程的不同有可能制造出具有稍许不同蛋白质性质的产品，这些变化有可能影响病毒的降低。例如，在本节介绍的研究中，IgG 溶液 1 和 3 是具有同样配方的 10%的蛋白质溶液，但是这两种产品在病毒灭活的动力学和程度上是不同的。BVDV 在 IgG 溶液 3 中，在 pH4.5、20℃时孵育后病毒的灭活是 4.1$\log_{10}$，但是在 IgG 溶液 1 中仅为 2.1$\log_{10}$。为了提高 BVDV 在 IgG 溶液 1 中的降低量，可能需要较高的孵育温度（如 25℃）或者较低的 pH（如 pH4.0）。可见，能证明一种产品病毒安全性的数据不应该被移植到其他的产品上，即使这两种产品在生化学上相似，而应该对每一个工艺进行仔细地验证。

2. 最终灭活手段：白蛋白的巴氏灭活

巴氏灭活法是对稳定的蛋白质水溶液加热，该法已经用来大量制备凝血 VIII 因子、抗凝血酶 III 以及 α_1-抗胰蛋白酶，但是对这些蛋白质进行湿热处理需要添加稳定剂，并要保证能在下游的工序中去除[13]。去除稳定剂及巴氏灭活材料中变性的蛋白质，会延长加工时间并有可能使产率明显降低[14]。第八因子（FVIII）的抗体形成是因加工和 FVIII 浓溶液的巴氏灭活引起的，这种 FVIII 新抗体的出现引起了人们的关注[15]。

白蛋白制剂在最终容器中通过巴氏灭活法（60℃，10hr）灭菌是灭活病毒的一种药典方法。通常加入辛酸钠和乙酰色氨酸作为稳定剂，它们和白蛋白结合阻止加热过程中蛋白质的变性或者聚合。只有最终容器中的白蛋白制剂能够耐受巴氏灭活，因为添加的辛酸钠和乙酰色氨酸量的是和静脉注射相符合的[16]。巴氏灭活对被膜和无膜病毒都是有效的，一些数据显示，巴氏灭活 20%白蛋白，病毒的降低量为：≥5$\log_{10}$ HIV-2，≥7.5$\log_{10}$ 鼠白血病病毒，≥3.5$\log_{10}$伪狂犬病病毒，≥4.2$\log_{10}$ Sindbis，≥5.5$\log_{10}$脊髓灰质炎病毒，6.6$\log_{10}$肉瘤病毒 40[17]。在安全上最有利的证据是在临床应用中，历史数据显示，自从白蛋白（以及血浆蛋白成分）溶液在最终容器中进行巴氏灭活后从未引起过转移性病毒感染[18]。

1973 年发生了由血浆蛋白组分（PPF）引起的 HBV 暴发，之后更多采用最终容器加热而不是灌装前的溶液加热，使安全性越来越有保证。研究显示，少量的 PPF 隐藏在大工艺容器的取样颈部，导致加热不当而引起爆炸。相反，白蛋白的最终容器，由同一个制造商提供，加热前完全浸在水浴中，没有传染 HBV[18,19]。

这里讨论的 Plasbumin®-25，是从组分 V 糊状物中纯化出来的，并且含有 23.5%～26.5%的蛋白质，其中白蛋白含量不低于 96.5%。制剂用 0.02mol/L 的辛酸钠和

0.02mol/L 的乙酰色氨酸稳定，并且含有 145mEq/L 的钠[20]。在病毒清除实验中，向白蛋白中加入病毒，在 pH6.4～7.4 时 60℃加热溶液 10h。病毒加入后立即取样（加热前），之后在样液温度达到 60℃时（0h）后在巴氏灭活循环的各个不同时间点取样，用于病毒滴度测定。未加热的白蛋白和 HBSS 也加入同样稀释度的病毒，作为阳性对照。

包膜病毒的灭活是两相的，因为 HIV-1、PRV 以及 BVDV 在巴氏灭活的最初 2h 内能被很快的灭活。虽然 2h 以后病毒的灭活变得很慢，但是在 5h 以后所有膜病毒的感染性均会被降低到检测限以下（图 4）。虽然无膜病毒 Reo 和 HAV（菌株 HM175/18f）不能被完全灭活，但是病毒水平有明显下降，达到 5.5$\log_{10}$ 和 4.4$\log_{10}$（图 4 和表 3）。PPV 是最耐巴氏灭活的病毒，只有不到 2$\log_{10}$ 的病毒被灭活（图 4 和表 3）。

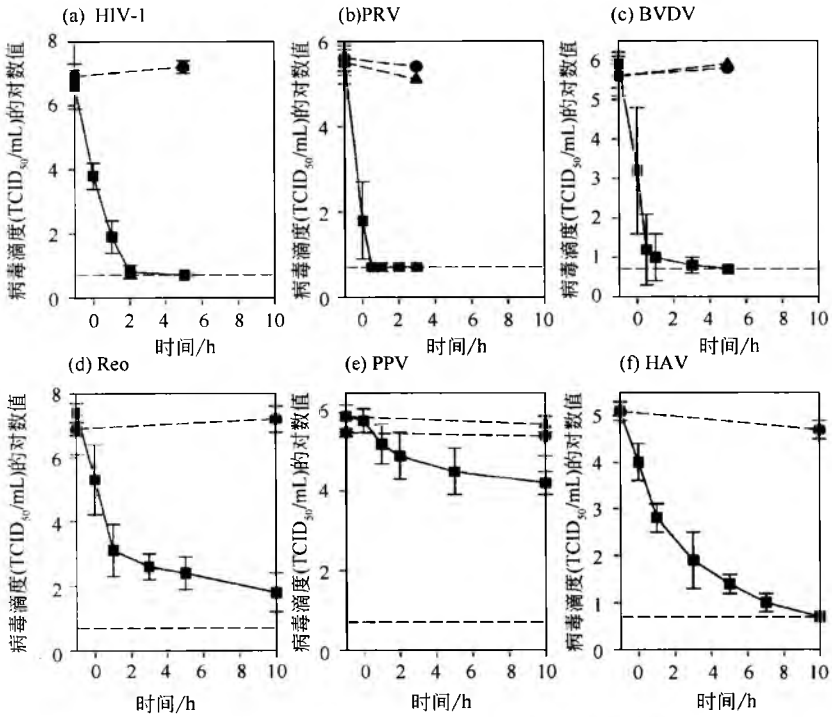


图 4 25%的白蛋白巴氏灭活中的病毒灭活动力学。(a) HIV-1，(b) PRV，(c) BVDV，(d) Reo，(e) PPV，(f) HAV。将病毒加入白蛋白中，立即取样测定病毒滴度（t=加热前），当巴氏灭活温度达到 60℃时开始计时（t=0h）。未加热的白蛋白和 HBSS 也加入病毒置于 5℃环境，作为对照。在巴氏灭活的不同时间点取样测病毒滴度（●=5℃的 HBBS，▲=5℃的 25%白蛋白，■=60℃的 25%白蛋白，虚线为病毒检测限）

表 3 25%白蛋白巴氏灭活的病毒减少总结

测试参数		病毒减少 $\log_{10}$					
		HIV-1	PRV	BVDV	Reo	PPV	HAV
pH	6.4	—	—	—	—	2.3	≥4.6
	6.9/7.0	≥5.9	≥4.8	≥5.2	≥5.6	1.6	4.4
	7.4/7.5	—	—	—	—	1.7	4.5
温度/℃	58	—	—	—	—	1.6	3.2
	59	—	—	—	—	1.9	3.3
	59.5	—	—	—	—	—	3.9
	60	≥5.9	≥4.8	≥5.2	5.6	1.6	4.4
	60.5	—	—	—	—	—	≥4.4

续表

测试参数		病毒减少 $\log_{10}$					
		HIV-1	PRV	BVDV	Reo	PPV	HAV
蛋白质浓度/%	5.0	—	—	—	—	1.7	3.3
	7.5	—	—	—	—	1.9	3.5
	25.0	≥5.9	≥4.8	≥5.2	≥5.6	1.6	4.4
	26.5	—	—	—	—	1.5	4.6

注：—表示未测试。

设计其他实验来检测巴氏灭活大多数物理化学拮抗病毒（HAV 和 PPV）的可靠性。在这些实验中，将一个参数（如 pH、温度或者蛋白质浓度）人为地设成加工中的极限值或设定在正常工艺范围以外，其他的所有参数则保持生产过程中的设定值（图 5 和表 3）。数据显示，PPV 的降

低在任何测试条件下都没有重大变化，但是 HAV 的降低却受温度和蛋白质浓度的影响。当加热低于或者在温度的下限时，HAV 的降低量低于 $4\log_{10}$。在 25%和 26.5%的蛋白质溶液中 HAV 的降低量高于 $4\log_{10}$，但是在 5%和 7.5%的蛋白质溶液 HAV 的降低量只有大约 $3\log_{10}$。在低浓度蛋白质溶液中，病毒的降低量更低，但是之前的预测是浓度更高的蛋白质溶液能够使病毒在理化处理中得到更好的保护。在 5%和 25%白蛋白溶液中蛋白质稳定剂的比率是一致的，但是因为 25%白蛋白含有比 5%白蛋白多 5 倍的蛋白质，因此稳定剂（辛酸钠和乙酰色氨酸）的浓度也比 5%白蛋白高 5 倍，因而 HAV 降低量上的不同有可能是由溶液中稳定剂（或病毒破坏稳定剂）浓度的不同引起的。

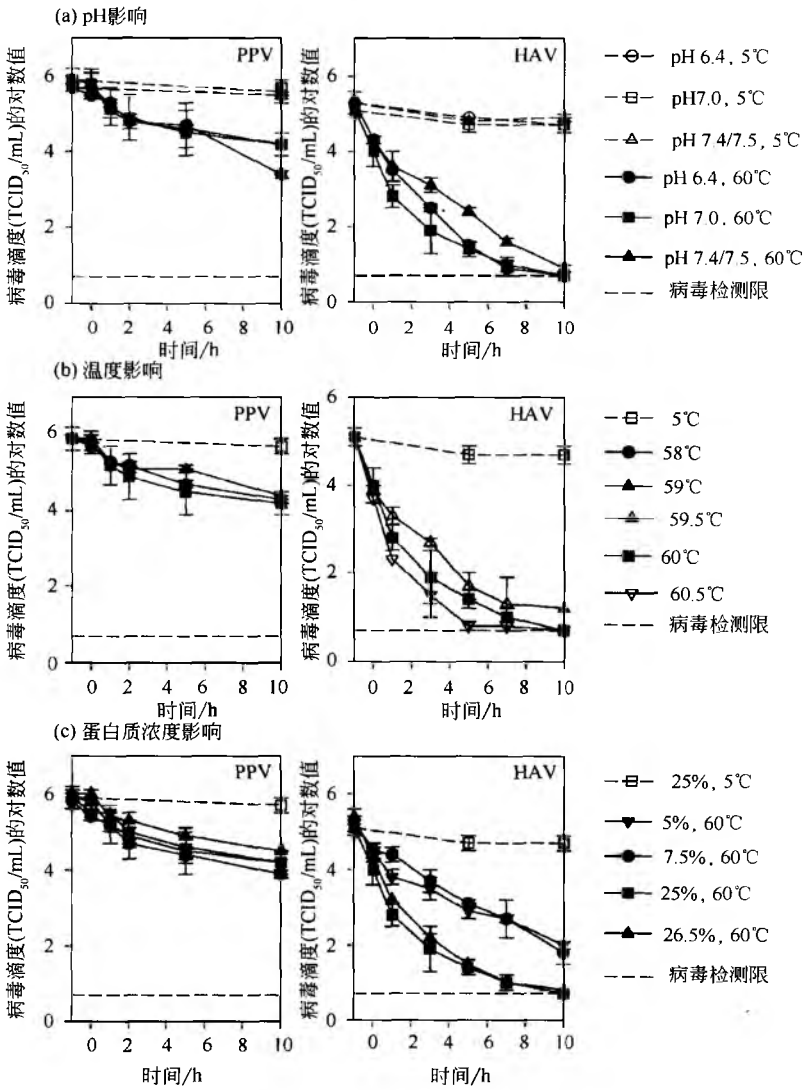


图 5　25%白蛋白巴士灭菌时（a）pH、（b）温度、（c）蛋白质浓度对 PPV 和 HAV 灭活的影响。方法见图 4，但试验了不同的 pH、温度和蛋白质浓度

用在清除实验中的所有病毒实际上都是模型病毒，因为它们都经调整以适于细胞培养，但实验室病毒菌株有可能和临床分离株存在少许差异。已有报道，HAV 的实验室菌株具有抗原性并在遗传上有一些变异[21]。对 HAV 菌株 HM175 的两个不同克隆 18f 和 24a 的 25%和 5%白蛋白溶液进行巴氏灭活，并且比较了其灭活动力学。结果显示，HAV HM175/18f 比 HAV HM175/24a 对巴氏灭活具有更高的拮抗性（图 6 和表 4）。HAV HM175/18 的滴度比在以前的实验中略高，但是灭活程度和动力学是相似的。HAV HM175/18f 在 25%白蛋白溶液中被灭活 $4.5\log_{10}$，但是在 5%白蛋白溶液中是 $3\log_{10}$。HAV HM175/24a 的灭活却不受蛋白质浓度的影响，因为在 25%和 5%白蛋白溶液中的巴氏灭活降低量都为 $4.2\log_{10}$。

HAV 的实验室菌株通常吸附在细胞膜上。繁殖 HAV 需要冷冻和解冻感染细胞使病毒释放出来。在释放过程中病毒有可能和细胞膜纠结在一起，因而有可能保护病毒不被抗体中和[22]。为了测定膜脂质能否保护病毒发生热变性，用三氯甲烷将 HAV HM175/18f 抽提出来，并且在白

蛋白巴氏灭活中比较了抽提的病毒和未经过处理的病毒的灭活性。结果显示，三氯甲烷抽提的病毒的灭活比未经处理的病毒快得多（图 7）。

利用三氯甲烷对 PPV 进行了提取，但是三氯甲烷提取对 PPV 的白蛋白巴氏灭活几乎没有影响（图 7）。这些结果与以前的报道相似，小鼠细小病毒是另一种细小病毒，在 1%的白蛋白中巴氏灭活 6h 后，只有 $1\log_{10}$～$2\log_{10}$ 被灭活[23]。因而巴氏灭活中的热稳定性可能只是特定细小病毒的特性，与病毒和细胞膜的连接无关。

概括来说，巴氏灭活对许多有膜和无膜病毒都是有效的，但是它们的灭活动力学是不同的。在 25%白蛋白的实验中，有膜病毒加热 5h 以后就降低至可检测水平以下，因而安全范围很宽。相反，无膜病毒的降低则更慢，需要加热整 10h。温度、时间、蛋白质浓度和稳定剂是病毒灭活过程中很重要的参数。

同时有数据显示，病毒的微小差异也不能被低估。不同的 HAV 菌株（克隆）和制备方法对病毒清除会产生重大的影响。在病毒验证实验中使用的病毒储备液是通过细胞培养产生的，而组织培养来源的病毒的行为有可能和天然病毒不同。实验室病毒株可能具有没有预测到的性质，如和脂质的连接有可能影响其性质。不管病毒清除实验中使用何种病毒，都应该严格控制病毒储备液，病毒应该从合格的和可追踪的细胞株和病毒种子库中产生。原始储备病毒的反复传代是不提倡的，因为有可能在原始材料中产生变异和衍生。

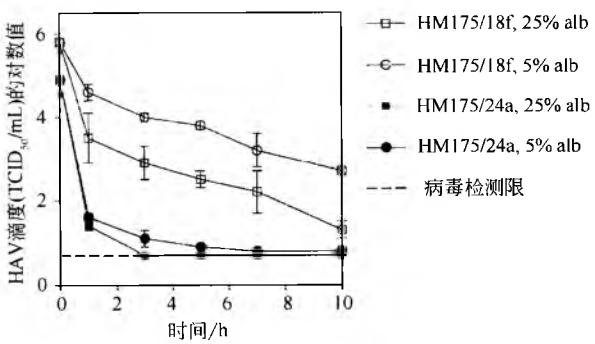


图 6 HAV 菌株 HM175/18f 和 HM175/24a 在 25%或 5%的白蛋白中巴氏灭活的动力学（方法见图 4）

3. 最终灭活手段：冷冻干燥产品的干热处理

蛋白质在水溶液中能被化学的（如脱酰胺作用或氧化作用）或物理的降解（聚合和沉淀）。当除去水将蛋白质保存在干燥的固体状态时，同时也将许多不稳定的反应的发生率降到最低。从产物中去除水的过程叫做冷冻干燥，是一个有效的提高稳定性和延长不稳定蛋白质的储存期的方法。在冷冻干燥中，产物经无菌灌装到最终容器中，然后冷冻，冷冻的固体在真空下通过冰的升华而干燥。

通过加热许多冷冻干燥后凝结的浓缩体来降低病毒转移的危险。在最终的干热处理中，对灌装在最终容器中的冷冻干燥的凝血 VIII 因子浓缩物，在温度 60～100℃的范围内加热几分钟到几天[4,24～26]。这个方法最先用来灭活乙肝病毒[27]，后来全国血友病基金会[28]和疾病控制中心[29]建议利用它来降低 HIV 的转移。

与冷冻干燥（干热）产物相关的工艺验证比液体配方产物更复杂，原因如下：

（1）确保一定的灌装体积是很困难的，因为许多配方含有少量的活性成分和大量的稳定剂。不像粉末或液体的灌装，冷冻干燥以后低量的灌装差异不易被察觉。

（2）确保无菌加工的难度更大。在无菌灌装前，最终产物的不同部分必须通过不同的方法灭菌，如干热灭菌去除玻璃容器的热源，高压蒸气灭菌和干燥可去除胶塞的湿气，无菌过滤用于灭菌液体配方的产品。无菌灌装以后，将胶塞置于小瓶上面，部分加盖后进入冷冻干燥箱。在冷冻干燥过程中，小瓶中已灭菌的材料会被暴露在箱体的氮气或空气中，因此必须利用除菌滤膜来保持的箱体无菌状态。因此，整个过程都存在着被污染的风险，直到冷冻干燥后小瓶盖上胶塞。

表 4 白蛋白巴氏灭活的 HAV 减少

测试溶液	HAV 减少 $\log_{10}$	
	HM 175/18f	HM 175/24a
25%白蛋白	4.5	4.2
5%白蛋白	3.1	4.2

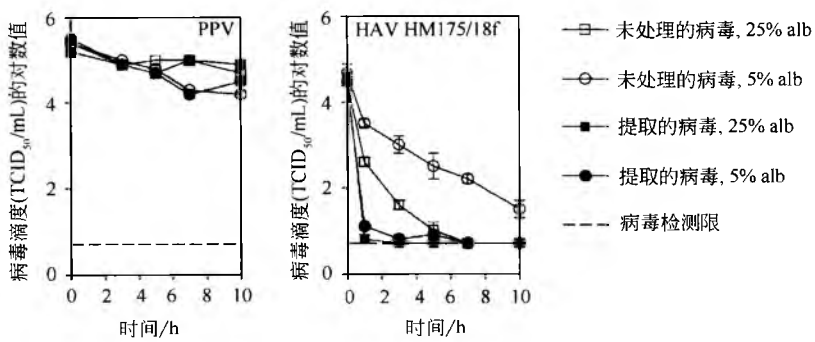


图 7 氯仿提取对白蛋白巴氏灭活时病毒灭活的影响。对于这些实验，病毒溶液一分为二，一份用等体积的氯仿提取，另一份正常配制。未处理的和氯仿提取的病毒用作巴氏灭活实验中的病毒加入液（方法见图 4）

(3) 设备的再利用也存在着被污染的风险，因此应对冷冻干燥设备的清洁过程加以验证以保证其灭活病毒的有效性。

(4) 冷冻干燥（干热）处理的技术是很复杂的，并且要求控制许多参数（例如，搁板、产品和冷凝器的温度，冷冻和干燥速率，箱体和冷凝器的压力烘箱中的温度以及热分布状况）。

单步工艺中许多变量的控制和把处理降低到实验室规模是同等困难的。但是对于最终的冷冻干燥（干热）处理，利用体外模型病毒清除实验得出的结果和动物实验以及临床实验得到的结果是一致的。

(1) 凝血 VIII 因子（抗血友病因子 T）的病毒清除实验显示冷冻干燥（干热）处理（60℃，72h）能有效的灭活 HIV（HIV-1 降低量≥3$\log_{10}$），但是对于 HBV 类似病毒（PRV 降低量＞1$\log_{10}$，VSV 降低量为 2.4$\log_{10}$）和 HCV 类似病毒（Sindbis 降低量为 2.9$\log_{10}$）却不太有效[30]。动物和人体的实验结果证实了利用病毒模型实验所得的结果。黑猩猩在接种了加入 HBV（30 000 黑猩猩感染剂量）并经冷冻干燥（干热）灭活的抗血友病因子 T 以后，感染上了乙肝 B 病毒[21]。在临床实验中没有患者在被接种加热的抗血友病因子 T 以后感染上 HIV-1[31]，但是 13 名患者中有 11 名感染上非 A、非 B 类型的乙肝[32]。

(2) 经有机溶剂（表面活性剂）处理的、冷冻干燥（干热）(100℃，30min) 灭活的凝血 VIII 因子浓缩液 (Emoclot) 的病毒清除实验表明，大量的 HAV 和小儿麻痹症病毒 1 在最终的冷冻干燥（干热）步骤中被灭活[24]。在这些体外实验中没有采用任何细小病毒模型。在临床实验中，13 名以前没有接受过任何治疗的患者在被给予 Emoclot 以后均未呈抗 HAV 阳性。相反，在 11 名敏感患者中有 5 名发生 B19 的血清转化，患上病毒血症[33]。

Koate®-DVI 是人血浆来源的凝血 VIII 因子（FVIII）冷冻干燥浓缩物，能被白蛋白（10mg/ml）稳定并且在含有 0.05mol/L 甘氨酸、3mmol/L 钙、0.06mol/L 组氨酸的缓冲液中制成制剂[34]。冷冻干燥后，在最终容器中加热到 80℃，持续 72h。水分子通常有助于保持蛋白质的天然状态，但是在冷冻干燥的材料中，水分子有可能引起降解反应。用以下的实验可以证明，在冷冻干燥（干热）病毒灭活过程中，控制残留的水分有可能是 Koate-DVI 工艺中病毒灭活的关键[4]。

加入病毒的凝血 VIII 因子的小瓶经冷冻干燥后，用含有不同水分的胶塞密封，加热到 80℃并且持续不同的时间段。利用近红外灶光谱仪监测加病毒的样品的湿度，其值校正为干燥失重值[37]，然后将冷冻干燥（干热）的材料加水复溶，并滴定残留的病毒。

如图 8 和图 9 所示，冷冻干燥后材料中的水分含量是不一致的。经高压灭菌的橡皮塞中含有一定量的水分，能转移到冷冻干燥的产品中[35,36]，且 80℃加热能促进这个转移过程。

病毒降低量也显示在图 8、图 9 以及表 5 中。在冷冻干燥过程中，HIV、BVDV 以及 PPV 很少或几乎没有降低，但是在冷冻干燥前后 PRV、Neo 和 HAV 的滴度都降低到 1～2$\log_{10}$。与湿度无关，HIV 和 BVDV 在 80℃时加热 24h 以后被灭活到检测限以下，而 Reo 则在 48h 以后被完全灭活。HAV、PRV 和 PPV 的灭活取决于系统中的水分含量。当系统中的水分是 0.8%时，病毒的灭活量大概为 4$\log_{10}$。但是当水分低于 0.8%时，加热后病毒的降低量≤2.5$\log_{10}$。

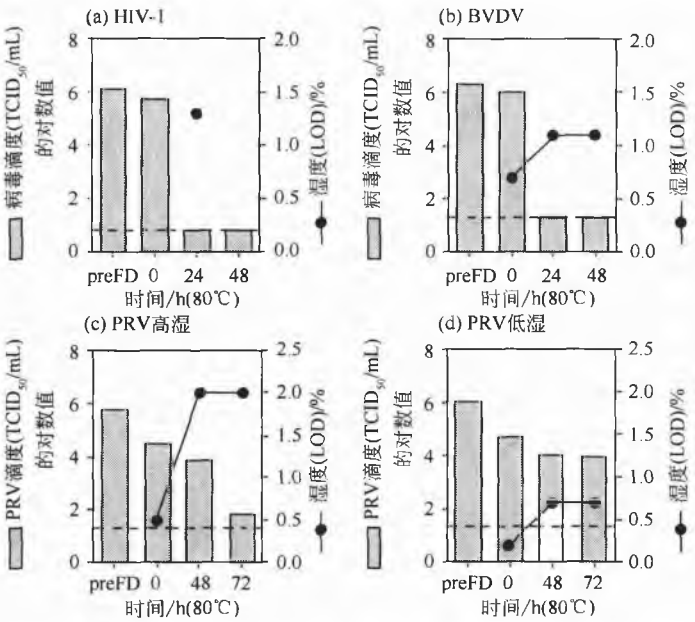


图 8 冷冻干燥的第八因子浓缩物经 80℃热处理后包膜病毒的灭活动力学。(a) HIV-1，(b) BVDV，(c) PRV（＞0.8%水分）和 (d) PRV（＜0.8%水分）。将病毒加入第八因子浓缩物中，立即取样测滴度；将加入病毒的第八因子浓缩物无菌灌装于小瓶中，冷冻干燥，然后用含水量不同的胶塞密封，80℃加热不同时间（24h、48h 或 72h）。preFD 表示冷冻干燥前将 NIR 读数转换成干燥失重值后，每个小瓶中的产品加水复溶，测定残留的病毒（灰色柱状图表示 $\log_{10}$病毒滴度，●表示%水分含量，虚线表示病毒检测限）

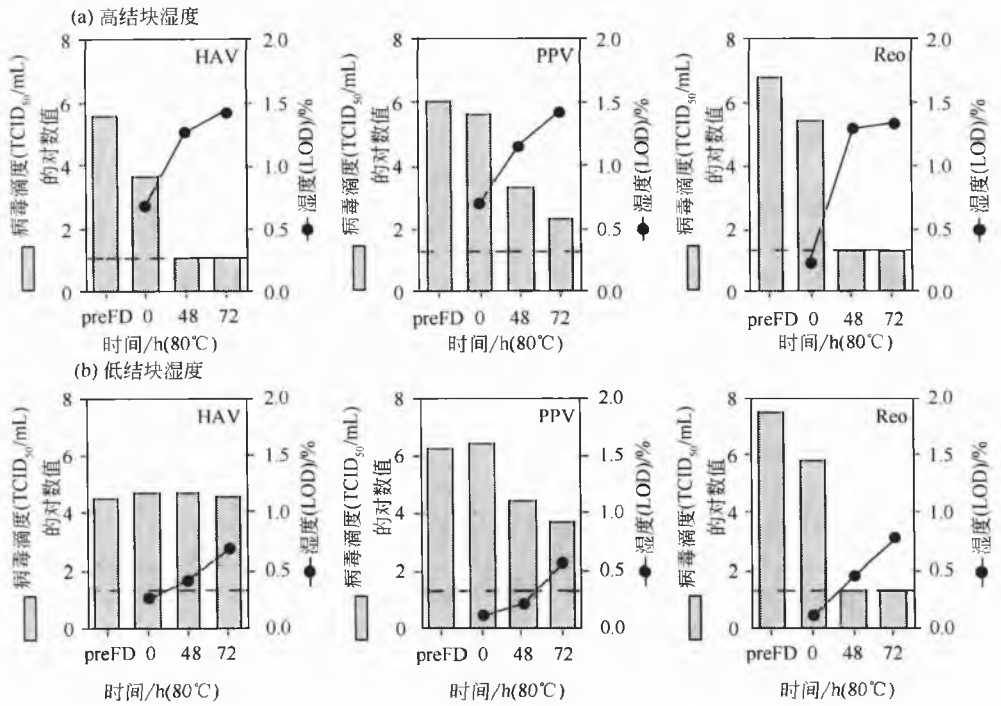


图 9 冷冻干燥的第八因子浓缩物经 80℃热处理后包膜病毒的灭活动力学。(a) 水分高时（>0.8%），(b) 水分低时（<0.8%）。方法见图 8。灰色柱状图表示 log_{10} 病毒滴度，●表示%水分含量，虚线表示病毒检测限

表 5 冷冻干燥的 AHF 80℃处理后病毒减少试验总结

膜病毒	HIV-1		BVDV		PRV	
	log_{10}病毒减少[1]	水分[2]	log_{10}病毒减少	水分	log_{10}病毒减少	水分
低湿	≥5.3	1.3 (24h)	≥5.7	1.1 (24h)	2.1	0.7 (72h)
高湿	—	—	—	—	4.0	2.0 (72h)
无膜病毒	HAV		PPV		Reo	
	log_{10}病毒减少	水分	log_{10}病毒减少	水分	log_{10}病毒减少	水分
低湿	0.1	0.7 (72h)	2.5	0.5 (72h)	≥6.2	0.4 (72h)
高湿	≥5.3	1.3 (72h)	3.7	1.3 (72h)	≥5.5	1.3 (72h)

注：—表示未测，方法见图 8。

1) log_{10}病毒减少 = log_{10} 总的病毒（冷冻前）− log_{10} 病毒（80℃热处理后）。

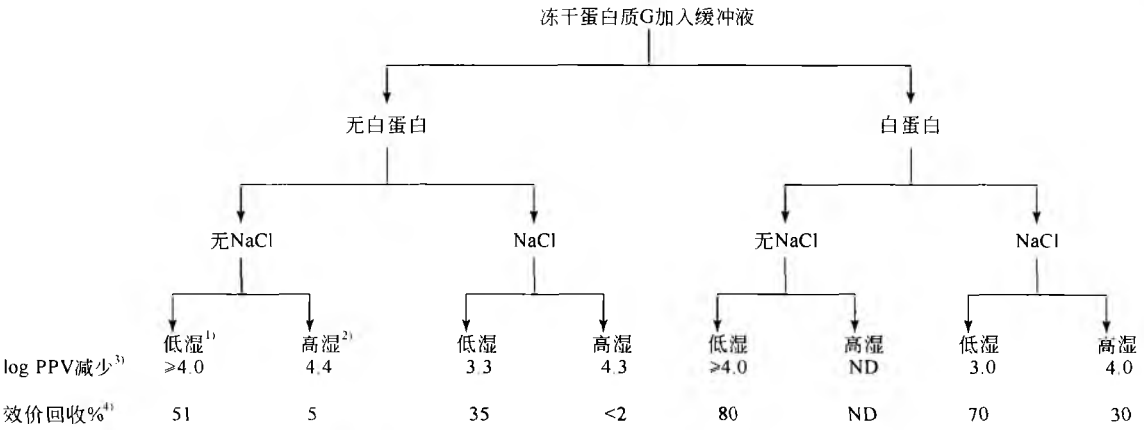
2) 冷冻干燥产品采用 NIR 光谱法测定，采用 NIR/LOD 校正曲线将其值转换为 LOD 水分值。

这些数据显示，如果维持最低水平的水分（0.8%），Koate®-DVI 工艺的冷冻干燥（干热）处理能有效的灭活大量的有膜和无膜病毒。在干热处理过程中，水分的增加也能破坏凝血 VIII 因子的活性，且当湿度为 1.6%时（该步骤中水分高限），比活度平均降低 11%[38]。为了补偿药效的损失，药物需要配得更浓来确保每毫克凝血 VIII 因子具有 9～22IU 的活性。

其他一些研究也显示，通过最终冷冻干燥（干热）手段（80℃，72h）能够灭活细小病毒。加入犬细小病毒的凝血 VIII 因子浓缩物的冻干产物（Replenate®）在 80℃、72h 后被灭活 3.0log_{10}，同样加入牛细小病毒的凝血 VIII 因子浓缩物（Liberate®）能被灭活 4.7log_{10}[39]。不幸的是，在这些研究中，处理后产物的损失高达 30%。

采用来源于不同种动物（如猪、犬以及牛）的病毒检测 Koate®-DVI、Replenate®以及 Liberate®的最终冷冻干燥（干热）处理，细小病毒的减少量和产品的回收存在差异，可能是由三种产品在配方和冷冻干燥上的差异而引起的。对于冷冻干燥产品，其配方和冷冻干燥的过程是相关联的。如果没有适当的缓冲液和稳定剂，或者最合适的温度和时间，许多蛋白质制剂会在冷冻干燥（干热）处理过程中因物理因素而降解。

冷冻干燥（干热）处理中，利用未批准的 Fraction I 来源的产物（蛋白质 G）来评估配方对病毒的减少量和产品的回收率（如药效）的影响。如图 10 所示，能够获得 PPV≥4log_{10}以及 80%产物回收率的最优配方是含有 2%白蛋白、无 NaCl 并且卡尔费休法测定水分≤0.3%。相反，配方中无白蛋白、含有 150mmol/L NaCl 并且水分低的产品在处理后 PPV 的降低量为 3log_{10}，产品回收率为 35%。因此配方上的微小改变，如添加 2%的白蛋白，都有可能在冷冻干燥（干热）处理中影响病毒的降低量和产品的回收率。



1）80℃干热72h后低湿≤0.3%（卡尔费休滴定法）。

2）80℃干热72h后高湿≥0.3%。

3）80℃干热72h后log PPV降低＝总的病毒数（冷冻前）－总的病毒数（80℃加热后）。

4）80℃干热72h后药效的回收率＝［药效（冷冻前）－药效（加热后）］/药效（冷冻前）×100。

ND＝未做

图10 配方对病毒降低和产品回收的影响。蛋白质G的处方中加入含有白蛋白（0或2%）和NaCl（0或150mmol/L）的缓冲液。加入病毒后立即取样测病毒滴度，加入病毒的材料无菌灌装于小瓶中，冷冻干燥后80℃加热72h，不加病毒的蛋白质G同样处理，但用于测定产品的回收率（效价）

概括来说，在最终冷冻干燥（干热）处理中存在着大量复杂的变量，使得验证非常困难，并且增加了出错的可能性，因为病毒清除实验结果的可靠性依赖于在实验中适当模型的使用，在小规模实验中使用的冷冻干燥（干热）处理材料和实验条件是能代表生产规模的，这一点很重要。在冷冻干燥的各个阶段，温度和压力必须控制，并且必须保证干热过程中烘箱中的温度分布是均匀的。工艺参数，如胶塞中的水分，应该被检测，因为它们能影响病毒灭活的速率和程度以及生物活性的回收率。

在小规模的病毒清除实验中，最困难的也许是复制或控制冷冻干燥材料的精确的组成和分子结构。蛋白质G的配方研究显示，病毒的降低量和产物的回收率受2%白蛋白存在的影响。不同的蛋白质都具有各自独特的理化性质以及稳定要求，因此每个新蛋白质药物需要不同的配方和冷冻干燥参数。对于最终病毒灭活步骤，开发一种使病毒不稳定的配方和冷冻干燥工艺也是同样重要的。

结论

对于终产品的潜在病毒污染测试，其灵敏度和精确度还未达到能确保不存在感染性病毒，因为许多污染血浆的病毒（如HCV、HBV和细小病毒B19）难以方便地在细胞培养中生长或被检测到。终产物中病毒核酸的检测是敏感的，但是不能区分感染性和非感染性颗粒。因此确保与病毒传染有关的血浆衍生物的安全性是一个间接的组合方法：原材料的筛选和选用、病毒感染性灭活（去除）的工艺验证，以及严格遵循cGMP的过程控制。

对源血浆的筛选只能避免已知感染源的污染。在生产过程中，蛋白质纯化步骤和特定的病毒降低方法能够灭活或者去除已知的和未知的病毒。最终病毒灭活处理应用于灌装在最终容器中的产品，并且必须在病毒的灭活和对蛋白质的免疫源性、活性和产率的影响上取得平衡。同时，许多上游的病毒灭活手段依赖于化学方法，需要添加并除去有毒溶剂（如有机溶剂、表面活性剂），物理的病毒灭活方法，如pH法和加热法，可用于最终步骤。

病毒验证实验能估计加工过程清除病毒的能力，对最终灭活和上游清除的数据进行评估和解释的方法是相似的。在病毒验证实验的设计和执行上的限制有可能导致对病毒灭活去除能力的错误评估。这里讨论了三种最终灭活处理的方法，结果表明，严格控制病毒验证实验是非常重要的。

（1）在IgG的低pH孵育过程中，pH和温度的轻微变化以及上游的加工步骤能够在病毒灭活的动力学和程度上产生重要的影响。因此在病毒清除实验中，必须小心地选择和定义过程中的变量，因为它们有可能改变病毒降低的有效性。

（2）白蛋白的研究结果证明，在巴氏灭活中病毒的选择（如HM175/18f和HM175/24a）、制备（如三氯甲烷抽提和未抽提病毒）和加工条件（如蛋白质浓度和温度）在决定病毒降低量上是同等重要的。因为实验室病毒和天然存在的病毒在对理化处理的敏感性上有可能存在一定的差异，因此必须仔细分析在模型病毒中观察到的结果，适当推广到目标病毒。

Z

（3）某些加工步骤是容易模拟的，但小规模的冷冻干燥（干热）步骤的复制是很困难的。病毒清除实验表明，选择的小规模模型合适时，结果才是可以信赖的。在 Koate®-DVI 冷冻干燥（干热）灭活过程中，病毒的降低依赖于水分的多少，因此胶塞的配方（在高压灭菌中能够吸水，然后把水分释放到冷冻干燥的材料中）也必须考虑并且要进行测试。

（4）对蛋白质 G 配方的研究提示，病毒的添加能够影响产品中间体的组成和冷冻干燥（干热）灭活处理。病毒清除实验指南指出[1,2]，起始材料中病毒的加入量应该尽可能地高，以便确定生产步骤中最大的病毒降低能力，在许多清除实验中，病毒的添加量可以高达 10%。因为蛋白质 G 在冷冻干燥（干热）处理过程中，病毒的降低量和产品的回收率受到 2%白蛋白存在的影响，大量的病毒有可能改变冷冻干燥材料的组成和结构。但是，除非开发一种新的分析工具能研究所有蛋白质在冷冻干燥（干热）处理过程中的基本行为，否则病毒的稳定性以及它们与血浆蛋白之间的相互作用就不能被完全理解。

这里讨论的最终灭活实验也证明，没有“魔法子弹”能够灭活所有的病毒。许多灭活方法只是对一些但不是所有病毒有效。因此制造过程应该包含其他的上游相关步骤来确保广泛和有效的降低病毒。不管制造过程对病毒的降低能力有多大，没有人能保证血浆来源的产品不含有病毒，因为并不知道原材料被病毒污染的程度，并且不能排除存在和出现新的不为人知病毒的可能性。

在过去的几年中生产过程得到了很大发展。在 20 世纪 80 年代末期，76%的血友病患者为 HCV 阳性[40]，1979～1985 年，大约 50%的血友病因为接受了血浆来源的凝血 VIII 因子而感染了 HIV[41]。然而从那以后，大多数美国批准的血浆衍生物不再传染 HBV、HCV 或 HIV，因为供体的筛选和测试方法有了很大发展，制造过程中也应用了有效的上游病毒降低和最终灭活方法[18]。现在使用血浆来源的产品上仍然具有的风险是被无膜病毒传染[42]。因此需要新的最终或上游病毒灭活（去除）方法，但是目前最棘手的是开发价格合理的方法来对付具有物理-化学拮抗性的无膜病毒，如人细小病毒 B19。

参考文献

1. Committee for Proprietary Medicinal Products. Ad Hoc Working Party on Biotechnology/Pharmacy and Working Party on Safety Medicines, EEC Regulatory Document, Note for Guidance: Validation of Virus Removal and Inactivation Procedures. Biologicals 1991, 19, 247－251.
2. Federal Health Agency and Paul Ehrlich Institute Federal Agency for Sera and Vaccines. Announcement on the Marketing Authorization of Medicinal Products: Requirements of Validation Studies for Demonstrating the Virus Safety of Medicinal Products Derived from Human Blood or Plasma. Federal Gazette No. 84, 4 May 1994.
3. Alonso, W. R.; Trukawinski, S.; Savage, M.; Tenold, R.; Hammond, D. Viral Inactivation of Intramuscular Immune Serum Globulins. Biologicals 2000, 28, 5－15.
4. Savage, M.; Torres, J.; Franks, L.; Masecar, B.; Hotta, J. Determination of Adequate Moisture Content for Efficient Dry-Heat Viral Inactivation in Lyophilized Factor VIII by Loss on Drying and by Near Infrared Spectroscopy. Biologicals 1998, 26, 119－124.
5. Finlayson, J. S. Therapeutic Plasma Fractions and Plasma Fractionation (Prologue). Semin. Thromb. Hemost. 1979, 6, 1－11.
6. Centers for Disease Control. Outbreak of Hepatitis C Associated with Intravenous Immunoglobulin Adminstration—United States, October 1993-June 1994. MMWR 1994, 43, 505－508.
7. Barandun, S.; Kistler, P.; Jeunet, F.; Isliker, H. Intravenous Administration of Human γ-Globulin. Vox Sang. 1962, 7, 157－174.
8. Friedli, H. R. Methodology and Safety Considerations in the Production of an Intravenous Immunoglobulin Preparation. Pharmacotherapy 1987, 7 (Suppl), 36S－40S.
9. Immune Globulin Intravenous (Human), 10%, Gamimune® N, 10%. Bayer Corporation Package Insert 14-7648-002, May 1999.
10. Hamalainen, E.; Suomela, H.; Ukkonen, P. Virus Inactivation During Intravenous Immunoglobulin Production. Vox Sang. 1992, 63, 6－11.
11. Reid, K. G.; Cuthbertson, B.; Jones, A. D. L.; McIntosh, R. V. Potential Contribution of Mild Pepsin Treatment at pH 4 to the Viral Safety of Human Immunoglobulin Products. Vox Sang. 1988, 55, 75－80.
12. Bos, O. J. M.; Sunye, D. G. J.; Nieuweboer, C. E. F.; van Engelenburg, F. A. C.; Schuitemaker, H.; Over, J. Virus Validation of pH 4-Treated Human Immunoglobulin Products Produced by the Cohn Fractionation Process. Biologicals 1998, 26, 267－276.
13. Burnout, T.; Radosevich, M. Reducing the Risk of Infection from Plasma Products: Specific Preventative Strategies. Blood Rev. 2000, 14, 94－110.
14. Schimpf, K.; Mannucci, P. M.; Kreuz, W.; Brackmann, H. H.; Auerswald, G.; Ciavarella, N.; Moesseler, J.; De Rosa, V.; Kraus, M. D.; Brueckman, C. H.; Mancuso, G.; Mittler, V.; Haschke, F.; Morfini, M. Absence of Hepatitis After Treatment with a Pasteurized Factor VIII Concentrate in Patients with Hemophilia and No Previous Transfusions. N. Engl. J. Med. 1987, 316, 918－922.
15. Barrowcliffe, T. W. Viral Inactivation Vs Biological Activity. Dev. Biol. Stand. 1993, 81, 125－135.

16. Gellis, S. S.; Neefe, J. R.; Stoks, J.; Strong, L. E.; Janeway, C. A.; Scatchard, G. Chemical, Clinical and Immunological Studies on Products of Human Plasma Fractionation: Inactivation of Virus of Homologous Serum Albumin by Means of Heat. J. Clin. Invest. 1948, 27, 239－244.
17. Grandgeorge, M.; Veron, J. L. Viral Validation of the Manufacturing Process of High Purity Albumin from Placentas. Dev. Biol. Stand. 1993, 81, 237－244.
18. Tabor, E. The Epidemiology of Virus Transmission by Plasma Derivatives: Clinical Studies Verifying the Lack of Transmission of Hepatitis B and C Viruses and HIV Type 1. Transfusion 1999, 39, 1160－1168.
19. Pattison, C. P.; Klein, C. A.; Leger, R. T.; Maynard, J. E.; Berquist, K. R.; Hoofnagle, J. H.; Barker, L. F.; Bryan, J. A.; Smith, D. E. An Outbreak of Type B Hepatitis Associated with Transfusion of Plasma Protein Fraction. Am. J. Epidemiol. 1976, 103, 398－407.
20. Albumin (Human) 25%, USP, Plasbumin®-25. Bayer Corporation Package Insert 14-7648-001, October 1998.
21. Lemon, S. M.; Murphy, P. C.; Shields, P. A.; Ping, L. -H.; Feinstone, S. M.; Cromeans, T.; Jansen, R. W. Antigenic and Genetic Variation in Cytopathogenic Variants Arising During Persistent Infection: Evidence of Genetic Recombination. J. Virol. 1991, 65, 2056－2065.
22. Lemon, S. M.; Binn, L. N. Incomplete Neutralization of Hepatitis A Virus In Vitro Due to Lipid-Associated Virions. J. Gen. Virol. 1985, 66, 2501－2505.
23. Schlegel, A.; Immelmann, A.; Kempf, C. Virus Inactivation of Plasma-Derived Proteins by Pasteurization in the Presence of Guanidine Hydrochloride. Transfusion 2001, 41, 382－389.
24. Arrighi, S.; Rossi, R.; Borri, M. G.; Lesnikov, V.; Lesnikova, M.; Franco, E.; Divizia, M.; De Santis, M. E.; Bucci, E. "In Vitro" and in Animal Studies on a Double Virus-Inactivated Factor VIII Concentrate. Thromb. Hemost. 1995, 74, 868－873.
25. Hart, H. F.; Hart, W. G.; Crossley, J.; Perrie, A. M.; Wood, D. J.; John, A.; McOmish, F. Effect of Terminal (dry) Heat Treatment on Non-enveloped Viruses in Coagulation Factor Concentrates. Vox Sang. 1994, 67, 345－350.
26. Horowitz, B.; Wiee, M. E.; Lippin, A.; Vandersande, J.; Stryker, M. H. Inactivation of Viruses in Labile Blood Derivatives II Physical Methods. Transfusion 1985, 25, 523－527.
27. Hollinger, F. B.; Dolana, G.; Thomas, W.; Gyorkey, F. Reduction in Risk of Hepatitis Transmission by Heat Treatment of a Human Factor VIII Concentrate. J. Infect. Dis. 1984, 150, 250－262.
28. National Hemophilia Foundation Medical and Scientific Advisory Council. Recommendations Concerning AIDS and Therapy of Hemophilia (Revised October 13, 1984); National Hemophilia Foundation: New York, 1984.
29. Centers for Disease Control. Update: Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) in Persons with Hemophilia. MMWR 1985, 33, 589－591.
30. Piszkiewicz, D.; Thomas, W.; Lieu, M. Y.; Tse, D.; Sarno, L. Virus Inactivation by Heat Treatment of Lyophilized Coagulation Factor Concentrates. In Virus Inactivation in Plasma Products; Morgenthaler. J. J., Ed.; Curr. Stud. Hematol. Blood Transfus. Basel, Karger 1989, 56, 44－54.
31. Rouzioux, C.; Chamaret, S.; Montagnier, L.; Carnelli, V.; Rolland, G.; Mannucci, P. M. Absence of Antibodies to AIDS Virus in Hemophiliacs Treated with Heat-Treated Factor VIII Concentrate. Lancet 1985, 1, 271－272.
32. Colombo, M.; Mannucci, P. M.; Carnelli, V.; Savidge, G. F.; Gazengel, C.; Schimpf, K. Transmission of Non-A, Non-B Hepatitis by Heat-Treated Factor VIII Concentrate. Lancet 1985, 2, 1－4.
33. Santagostino, E.; Mannucci, P. M.; Gringeri, A.; Azzi, A.; Morfini, M.; Musso, R.; Santoro, R.; Schiavoni, M. Transmission of Parovirus B19 by Coagulation Factor Concentrates Exposed to 100℃ Heat After Lyophilization. Transfusion 1997, 37, 517－522.
34. Antihemophilic Factor (Human), Koate®-DVI. Bayer Corporation Package Insert 14-7665-001, October 2000.
35. De Grazio, F.; Flynn, K. Lyophilization Closures for Protein Based Drugs. J. Parenter. Sci. Technol. 1992, 46, 54－61.
36. Pikal, M. J.; Shah, S. Moisture Transfer from Stopper to Product and Resulting Stability Implications. Dev. Biol. Stand. 1992, 74, 165－177.
37. Jones, J. A.; Last, I. R.; MacDonald, B. F.; Prebble, K. A. Development and Transferability of Near-Infrared Methods for Determination of Moisture in a Freeze-Dried Injection Product. J. Pharm. Biomed. Anal. 1993, 11, 1227－1231.
38. Koate Characterization Report, Bayer Corporation Process Characterization Report, ETR-0799, 1999.
39. Roberts, P. L.; Hart, H. Comparison of the Inactivation of Canine and Bovine Parvovirus by Freeze-Drying and Dry-Heat Treatment in Two High Purity Factor VIII Concentrates. Biologicals 2000, 28, 185－188.
40. Brettler, D. B.; Alter, H. J.; Dienstag, J. L.; Forsberg,

A. D.; Levine, P. H. Prevalence of Hepatitis C Virus Antibody in a Cohort of Hemophilia Patients. Blood 1990, 76, 254－256.

41. Evatt, B. AIDS and Hemophilia-Current Issues. Thromb. Hemost. 1995, 74, 36－39.

42. Yee, T. T.; Lee, C. A.; Pasi, K. J. Life-threatening Human Parvovirus B19 Infection in Immunocompetent Hemophilia. Lancet 1995, 345, 794－795.

（罗宏伟　译）

Z

专利：国际观点

Stuart R. Suter
Suter Associates, Glenside, Pennsylvania, U. S. A.
Peter J. Giddings
SmithKline Beecham plc, Brentford, United Kingdom

引言

对于基于研究的制药工业来说，一个完善而强有力的专利制度是十分重要的。制药工业的成功在于能否研制出新颖的或独一无二的药物来治疗人类的疾病。专利制度就是在一段时期内，保护这些新兴产品，如果此产品的下一代能够改善人类社会的健康，那么政府允许动用一部分的财政收入来进行进一步的研究。理解专利制度的基本核心对那些从事制药工业研究与发展的人来说是十分重要的。

什么是专利

专利是政府授予创造发明的发明人的一种特许权利，这样，发明者就可以将他的发明公之于众。这种权利对社会来说是十分重要的，因为这样可以激励人们进行更多的创新和发展，如果没有这种权利，发明者就会将他们的发明保密起来，那样，对整个社会来说就没法进行进一步的发展。

专利权利不仅受时间限制，还受地区限制，这个地区外的其他人都可以制造、使用和出售这些发明。因为政府特许的这些权利，只有在这个政府的管辖范围内才有效。也就是说，如果在美国申请的专利只有在美国本土或者其他的殖民地，像波多黎各才受保护。假如发明者希望在日本、加拿大或其他欧洲国家也受到保护，他们必须在这些国家都申请此项专利。

理解专利的不排外性是十分重要的。发明者自己不能利用这个权利来使用他的发明。因为这种使用权可能会受到其他必须使用的专利限制，或者受到无关专利一些法律法规限制。

举个例子来说，在有医药产品销售健康登记法规的国家，一个发明者不能随意使用其发明，因为其他的专利可能与他的发明有共同点。例如，×申请了一个化合物大种类的专利，该种类能够治疗高血压，我们的发明者更精确地提炼这种化合物，并且这种成分并没有在×专利中有过特别陈诉，他就可以为这个发现申请专利，但是鉴于×的专利权利，在销售这个化合药物时，他必须得到×的同意。

专利属于知识产权。知识产权还包括商业机密、商标、外观设计权和版权。

商业机密是指不为公众所知的，能够给所有者带来经济利益或能够提高竞争力的任何信息。商业机密只有在保持秘密的情况下才有价值，但在当今的社会很难做到这点。在制药工业中，出于对整个社会健康的考虑，几乎没有什么发明可以作为商业秘密，药物的化学成分总是被公之于众。

商标是用来区别某一工业或商业企业或这种企业集团的商品的一个词语，一个名字或者一个标志。两个或两个以上的公司可以销售同一种产品，但是人们可以通过商标来区分它们。同一类的药物可以通过多种途径得到，对于不同的销售商，这些药物都有唯一的商标，甲氰咪胺的TAGAMET商标是个很好的例子。

版权保护了艺术家和作家的作品。在制药工业中，版权用来保护用于产品推广的广告、著作及其他出版物。

外观设计权保护的是一个物品的外观设计，换句话说保护的是其外观特点而不是其技术特点。在制药工业中，药片的特别形状或者药品包装的外观，都可以申请外观设计权。

专利制度起源于早期的威尼斯，早在1460年，那里就有了专利。英国是英美专利制度的发祥地，在1624年，英国国会就颁布了《专利权条例》。在很长的时间里，这个法规为英国的专利制度奠定了基础。在英国的专利制度中，美国在独立之前是没有权利申请专利的，最基本的专利制度是由美国宪法制定的。其中的第一条款，第八节规定，美国国会有权对那些能够加速科技发展的发明者或写出对社会有用的作品的作家提供一段时期的专利保护，并分别授予他们的作品和发明以特殊的权利。在1790年4月10日，美国爆发了第一次专利和版权运动。

专利和制药

制造药品方面的专利制度多年以来一直是重大的争论话题之一。许多国家，特别是那些几乎没有基础科技工业的国家，提出如果对药物提供专利保护是违背社会利益的。一些国家觉得食品也应如此。基于这个理论，药品的专利是被限制或者完全禁止的。他们觉得只有化学药品的生产工艺可以申请专利。也就是说，假如一个人发现了一个不同的方式来制造这个药物，他就可以与这个药物的创始人申请不同的专利。

根据历史来看，假如一个国家越发达，那么它就会加强力度来保护它的药物本身，通常被称为“药物产品保

护”。像德国和日本，分别直到1968年和1978年在修改他们的产品保护法规时，才对他们的药物提出保护。中国直到1985年7月1日才有了自己专利法，也仅仅是对制药工艺提出保护。到1993年1月1日，中国修改了专利法，才允许对药品本身实施保护。

自1986年以来，就在全球范围内如何制定知识产权法规，各国政府进行了不断的探讨。这些商讨已成为关税及贸易总协定会议的重要组成部分，直到1994年，签署了《与贸易有关的知识产权协议》，才告一段落。这个协议就知识产权的保护制订了全面的条例，并且在1995年生效。这个协议十分全面地涵盖了与专利有关的事项。举个例子来说，它包含了对药物本身的专利保护法条款和自申请日起20年的专利有效期条款。作为一项基本法，发达国家实施此条例的时间为1996年1月1日，发展中国家是2000年1月1日，直到2006年1月1日第三世界才开始实施此条例。

总之，药物产品的专利保护法在近几年得到了显著的改善，并还会继续完善。

新药对整个制药工业都是十分重要的，许多药品都来源于大自然，像从植物中提取或从发酵物的溶液中提取以及从微生物中提取。在许多国家，想保护这些发明有时会变得十分困难，因为这些材料都来源于大自然，被看做是自然的产物，并不是新兴事物。(如果用这些药物的天然形式来申请专利，在一些案例中是可以的。)

随着生物工艺学的发展，关于“活物”的专利产生了戏剧性的变化。在1980年，美国最高法院裁决了著名的DIAMOND VS CHAKRABARTY案件。在这个案件中，由人工繁殖的一个新的细菌品种拥有消化油的能力，这对于处理海面浮油是十分有用的。那么对这个细菌申请专利就变得十分重要，因为他们是利用了细菌本身而没有开发新的产品。一些公众部门的团体和个人对此项案件给予了很大的关注，因为这案例为生物能否申请专利开创了先例。在1988年，美国批准了一个关于“哈佛老鼠”的专利，专利号为4736866。这只被人工植入了另一生物遗传基因的肿瘤鼠，在其胚种和体浆细胞中含有致癌基因。这就可以协助研究人员了解药物对于肿瘤细胞的作用机制，这是进行癌症研究时非常重要的研究工作。自此，除“人”之外的其他高等动物的专利开始颁布。

在欧洲，关于生物工程发明是否可以申请专利一直是立法界和政治界辩论中的热门话题。1998年7月，欧盟为了使欧洲生物工程发明的专利法协调一致，颁布了98/44/EC法令。到2000年9月，许多国家各自的法规才与此法令相一致。然而，荷兰政府在欧洲法院，对这项法令的合法性提出了质疑，此案正在待审中。

哈佛大学研发出肿瘤鼠后，取得了欧洲专利，但是许多组织对这项专利提出了反对意见，目前情况尚不明朗。

国际条约和系统

如上所述，对专利的保护是受地区限制的，因此，若想在一个国家寻求这种保护，就必须在这个国家申请专利。为了能够方便和有效地获取国际性的专利，国际条约和地区条约正在不断地协调。总部在瑞士日内瓦的国际知识产权组织已经实施了一些重要的条例。

1. 巴黎公约

巴黎公约是《保护工业产权巴黎公约》的简称。1883年，11个国家在巴黎首次签署了该条约，在过去的几年中，该条约被修改过好几次，今天，已有157个国家加入了该条约。中国台湾虽然对制药工业有着至关重要的作用，但却不是此条约的成员。

巴黎公约的一个重要的特点在于，假如申请人在某个国家提出专利申请，那么他在一年内可以在任意成员国对他们首先提出的申请请求优先权，这个被称为条例优先权。正如以下所述那样，这对于在制药工业中形成的专利策略是十分重要的。假如第一个申请满足条约的要求，那么在同一天，这个申请在所有的成员国都享有同等待遇。

2. 布达佩斯条约

假如一个发明涉及微生物，许多国家要求存放生物材料来完成这个发明。国际知识产权组织在1977年签定了布达佩斯条约，1980年这个条约生效，并有48个国家加入此条约，组成了一个国际微生物保存的联盟。当一个微生物菌种存放在某一个成员国，必须满足所有缔约国的要求。按该条约微生物保存和培养的要求已经制定。自存放日起，至少可以获得30年的存放期。

3. 专利合作条约

专利合作条约于1978年生效。包括美国、所有欧洲专利条约的缔约国、日本及加拿大在内的109个国家加入了此条约，中国于2001年1月1日加入该条约。专利合作条约的基本特点是：若申请人想就一项发明创造向几个国家申请专利，可以通过国际申请来实现。

申请人可以按条约规定向任何一个缔约国的专利局提出申请，并可以使用任何一种所允许的官方语言——英语、德语、法语，中文，日语、俄语及西班牙语。此条约在制药工业中起着十分重要的作用，它提供了一种有效的方式，使得在全球范围内能够以最小的花费更快捷有效地获得最多的专利保护。

在申请巴黎公约优先权的一年内，可以提出专利合作条约申请。自国际申请日（或优先权日）起满18个月后，国际局将公布PCT国际专利申请和国际检索单位作出的检索报告，并将该申请连同检索报告送交该PCT专利申请要求的“指定国”的专利局。这样，申请人对他的申请有两种选择：①申请人应在从优先权日期算起20个月内，向每一指定局提供国际申请的抄本一份（除非已按第20条的规定送交）和译本一份（按照规定），并交付国家费用（如有交费规定）。②到19个月末，在其国际申请已提交该国或代表该国的受理局后，可要求进行国际初步审查。这种审

查一般在获得优先权日的19个月到28个月之间进行。在此期间，申请者有权对在国际初步审查报告定稿之前，并在规定的时间期限内修改权项、说明书和附图。当然，到第30个月末，向每一指定局提供国际申请的抄本一份（除非已按第20条的规定送交）和译本一份（按照规定），并交付国家费用（如有交费规定）。

专利合作条约的基本特点是：若申请人想就一项发明创造向几个国家申请专利，可以通过国际申请来实现。申请人可以按条约规定向任何一个缔约国的专利局提出申请，通常是向本国专利局提出。在自愿选择的基础上，可通过一次国际申请获得几个或全部缔约国的专利权。这样可以避免同一发明创造在不同国家申请专利时，有关国家都重复审查的现象，也可以对一些国家提供检索帮助。在制药工业专利发展的早期，就有了新的潜在产品的专利申请。在发展过程中，许多潜在的产品专利已被淘汰。专利合作条约允许在提交译本和国家费用之前的30个月内，提出专利申请。在此条约的指导下，制药公司可以在主要的国家以最小的花费来保持其30个月的专利申请权，在这段时间内，可以研究此项发明和判断它的商业潜力。

这个条约受到了大家的欢迎，并得到了广泛的使用。在1999年，通过专利合作条约共批准了74 023个专利申请，相对于1989年的14 874个和1979年的2625个有了大幅度的提高。

4. 欧洲专利公约

欧洲专利公约是一个地区的国家共同建立的一个地区性条约之一。它是地区专利制度中最重要的一个。它经过了众多欧洲国家的商议，并在1977年10月7日生效。1978年1月1日，欧洲专利局开始接受专利申请，就有八个国家加入了此公约。到2001年的1月，共有20个国家加入了此公约。另外，包括斯洛维尼亚共和国和罗马尼亚在内的6个国家承认欧洲专利可以作为国际专利，在他们国家同样有效。

根据欧洲专利公约的条款，申请者在欧洲专利局申请的专利，在其希望获得专利保护的20个国家里都享有同等效力。申请者如果向欧洲专利局提出申请，经过其审查发现这项发明可以申请专利，那么自公布授予专利之日起，在对其授予专利的每一缔约国内，欧洲专利对其所有人授予与该国的本国专利所授予的同样权利。根据欧洲专利公约，在刊载授予欧洲专利之日算起的九个月内，任何人均可向欧洲专利局对所授予的专利提出异议通知。如果超过这段时间才对这个专利的合法性提出异议，那么就必须根据这个国家的专利法裁定。

欧洲专利公约对申请专利保护提供了一个有效力的方式，使得一个专利的申请和检举在26个国家都享有同等效力。当欧洲专利公约开始实施的时候，人们还在担心这个公约是否会受欢迎。随着时间的推移，这种担心逐渐消失了，如今，这个公约在制药工业中已得到了广泛的使用。

5. 其他的地区制度

还有很多其他地区现行的地区专利制度。在非洲，有两个地区制度：在1976年颁布的ARIPO哈拉雷协定书和在1362年建立的非洲知识产权组织。这两个制度分别有11和15个成员国。在中东，包括沙特阿拉伯和阿拉伯联合酋长国在内的6个国家共同签署了海湾条约，包括前苏联在内的9个国家共同制订了欧亚专利制度。

在制药领域可申请专利的发明

美国专利法第101条规定：可以获得专利的发明是指新颖而有用的制造方法、机器、制造品、物质的组合，或者它们的新颖而有用的改进。欧洲专利条约第52章规定，只要满足专利申请的三个条件的发明都可以申请专利，包括科学理论、数学方法和治疗手段。基于这个广义的定义，在制药领域的研究过程中出现了很多不同的发明。

1. 有关化学药品的发明

在制药领域，有关化学药品的发明是最重要的。表1说明了一般可在制药领域申请专利的发明。

表1 可申请专利的有关化学药品的发明

化合物本身
新的化合物的药物成分
已存在的化合物的新的药物成分
治疗疾病的物理治疗方法
化合物的使用（包括第一次使用）
已存在的化合物的新的药物作用
新的化合物的分析工艺
工艺本身（只要是新颖的且有创造性的）
成药工艺
不同的盐形态，含水物的和多晶体物

特别是人工合成的物质的新成分或者新的化学药物占据了此领域的主导地位。它们通过人工合成的方法获得，或者直接来源于大自然，例如植物、海洋生物或者发酵产物。有时，一个化合物如果不是以“纯”状态存在，它是不能作为医药产品的。如果它已经过精炼，并满足了申请专利的要求，它就可以以这个“纯形态”申请专利。

除了化合物本身，获得这种化合物的工艺也是可以申请专利的。在不同的国家，对类似化学反应生成的新化合物或者启用一种新物质的专利申请标准是不一样的。

新的化合物的医药成分或者经过改进的已存在的化合物的新的组分也可以申请专利。对于一个新的药物传递系统，专利保护是十分重要和有用的，特别是对于已存在的药物的发展。

在制药领域，治疗特殊疾病或生理疾病的方式方法是另一个重要的发明形式。必须强调的是，在欧洲，申请这种被称作是“制药方法申请”的专利，申请要求高于工业

专利的申请要求。这些用来制造治疗特殊疾病的药物作为化合物的申请专利。在美国，这样的申请需要提供临床实例。这种规定是正确的，假如一项新的发明可以治疗难治之症或者过去根本无法治疗的疾病，像癌症或艾滋病，更需如此。在审查过程中，对用化合物×治疗癌症的方法就会得到质疑，结果通常是这个治疗方法会不断地修改，直到能够证明其有用。

2. 生物发明

随着生物工艺学在1980年的兴起，一个特殊的专利法开始形成。一般来说，申请生物工程类专利的要求和化学类专利的要求基本相同。生物发明和其他发明一样必须满足一定的法律规定，表2中说明了在生物领域可申请专利的发明。很清楚，生物科技可以导致生物发明的产生，这些发明在以前是无法通过传统的化学方式获得的。

表2 可以申请专利的生物技术发明

重组物
蛋白质
和蛋白质反应产生的抗体和单抗
蛋白质的DNA码
表达系统
含有DNA的细胞核重组
使用重组的细胞核生成蛋白质的工艺
蛋白质净化工艺
制备抗体或单抗的工艺
使用DNA排列顺序的方法
蛋白质的医药成分
治疗方法
转染媒介
增进剂
单核苷酸多态性
表达序列
基因DNA
单克隆抗体（Mab）
生成单克隆抗体的杂交体
生成单克隆抗体的工艺
单克隆抗体的医药成分
新的抗原和它的相关制造工艺及方法

申请专利的要求

申请专利有三个基本要求：新颖性、创造性和实用性。每个国家的要求都有可能不同，并在各自的法令法规中进行成文规定。

1. 新颖性

专利法的第一要点就是如果要获得专利，这个发明必须是新颖的。美国专利法的102条和欧洲专利公约的第54章，分别对新颖性进行了法定规定。

美国专利法的102条对新颖性进行了几项规定。其一，如果申请人的一项发明在其发明日之前，在美国已被知道或已被别人使用或者在美国或外国已被授予专利或已在印刷出版物上描述过，则申请人的该项发明不能被授予美国专利。第102条（b）款规定，如果在申请人的有效美国申请日一年以前（不含一年），申请人的该项发明在美国或外国已被授予专利或已在印刷出版物上描述过或者在美国已被公开使用或已被出售则申请人的该项发明不能被授予美国专利。这个一年的优惠期是美国独有的，在其他地方并不适用。这规定被称为“占先”，也就是说在申请这项发明时必须进行一个单纯的事先技术说明，指出该发明正在申请专利，使得其新颖性对其他人来说是无效的。如果这项发明的核心部分并没有事先说明，在其他参考书中发现了对此的描述，则占先就不存在了。

欧洲专利公约第54章对“发明”进行了如下的定义：“不属于现有技术的发明应认为是新发明”，并对现有技术进行了说明，“现有技术应认为包括在欧洲专利申请日前，以书面或口头叙述的方式，以使用或通过任何其他方法使公众能获得的东西。”

2. 非显而易见性和创造性

在许多情况下，在美国、英国等国家对非显而易见性和创造性的审查是较为困难的。美国专利法第103条和欧洲专利公约第56条对此做了规定。其大致意思是，申请专利的技术方案与现有的技术内容相比，该领域的普通技术人员不容易从现有技术容易联想到，必须付出创造性的智力劳动才能获得其发明创造。在制药领域，新化学药物通常和已申请的化合物有十分相近的构造或有相似的用途。这种情况下，能否在审查过程中提供创造性的证据就变得最引人关注了。

3. 实用性

美国专利法第101条和欧洲专利公约的第57章对实用性提出了具体的要求。

在美国，实用性是一个非常广泛的概念，并不意味着所拥有的商业用途。在制药领域，如果试管实验的结果显示和治疗某种生理疾病有一定的联系，那么这个发现就满足实用性的要求。假如这个发明仅仅只能作为一个科学珍品，就不能满足其要求。化学的中间媒介可能无法满足实用性的要求，假如它们可以用于制造产品并且所制造出的产品具有实用性，那就可以申请专利。如果它们仅仅可以用来制造产品，此产品不具有实用性，那么就不能申请专利。

在欧洲，还要求具有工业实用性。举个例子来说，由于人类或动物身上的药物治疗方法或诊断不具有工业实用性。虽然如此，在这些方式方法中所产生的有用物质还是可以申请专利的。

专利的获得

当一项发明诞生的时候，人们通常会考虑这项发明能

否申请专利。每个公司可以通过多种国际程序来决定何时何地寻求专利保护。

一旦决定了要获得专利保护，就必须提出专利申请。首次申请的提出被看做是优先权的申请，这个申请日被看做是优先权日期。（如上所述，这关系到此发明能否授予专利）

1. 提出专利申请

发明人通常在自己的本土提出第一个专利申请。这在许多国家，都有明文规定。如果发明人想先在另一个国家提出申请，就必须满足一定的要求。在美国，没有政府的允许，是不能向其他国家进行技术输出的。发明人在美国的发明，必须先在美国申请专利，并且如果没有美国专利局的准许，在提出申请的 6 个月内，不得向任何其他国家提出申请。假如发明人希望先在别的国家提出申请，那么他必须在提出该申请前，先向美国专利局递交申请且获得输出许可证方可。

在提出优先权申请后，申请人必须在巴黎公约所规定的 12 个月的公约期限内决定要在哪些国家提出申请，这通常被称为“提出国外申请的决定”。提出申请要求获得专利保护的费用同提出的次数和不同的译本成比例增长，所以“国外申请的决定”不能轻易作出。

申请人就提出申请有多种选择：①仅在自己的本土提出申请，在其他地方不寻求专利保护；②在公约期限内，向一个或多个国家提出国外申请；③放弃本土申请并不寻求专利保护。

决定如何选择的因素很多。如果一项发明被完全或者几乎完全理解，且它的商业潜力是众所周知的，那么决定在什么国家提出申请并不是什么难事。许多制药公司都有“申请群组”的国家清单。根据该项发明预计的商业潜力来使用，这些群组有时只有一些主要国家，有时却包含很多国家，50～100 甚至更多。每个公司基于多种因素来制订他的“申请群组”。这些因素有申请费用、在这个国家的专利保护力度、此公司的市场情况等。同样地，每一个特定的发明也要根据此发明的类型、商业潜力和预计的市场占有率等因素来选择恰当的“申请群组”。

相反，如果这个发明和它的商业潜力尚不明朗，这个申请可以不断的撤销和再申请的。不过这个过程存在着风险，因为其他人可以在申请人的第一个优先权日和再申请进程中获得的第二个优先权日之间提出专利申请。当此发生时，申请人就会在许多国家丧失申请这项发明的权利。这在那些有众多研究人员充满竞争的国家里是特别危险的。

一个可行的替代方法是根据专利合作条约的条款来提出国际申请，在申请费和译文等费用产生之前，就有另外的 18 个月的期限（详见上述“专利合作条约”），即使 12 个月的优先权日已过，申请者仍然可以提交专利申请书，只要他的发明没有被公众使用或者在任何出版物上出现过。许多国家包括欧洲专利局和专利合作条约的缔约国在优先权日的 18 个月后，发布专利申请书，美国直到 2000 年的 11 月 29 日起才开发布专利申请书。如果没有发布申请书或者申请人没有在任何科学杂志上发布其发明，那么他仍然可以在另一国家提出专利申请，并获得专利。这被称为“非公约申请”。因为申请人没有在他的优先权日后紧跟着提出专利权申请，因此，假如这项发明在 12～18 个月之间出现了新的商业潜力，那么申请人就要考虑是否要进行非公约申请。

2. 对申请的审查

一旦提出了专利申请，每个专利局在授予专利前就会对其进行审查。每个国家的审查的严密性都不相同，有些国家仅仅是对这个申请书是否按照这个国家的规章制度使用了正式的纸张进行形式审查，而有些国家却要进行实质审查，不仅对公文规范进行审查，还审查此项发明是否具有专利性。美国、日本、欧洲专利局则按照专利申请的所有要求对其进行审查。在美国，2000 年 3 月 29 日或之后提出的申请，必须经过三年的审查才能被授予专利。如果不是这样，那么专利有限期就会被调整，前提是申请人在规定时间内完成了所有的专利审查进程。最近，欧洲专利局把其审查期调整为在提出申请后的 2～3 年。日本使用可延长的审查方式。在日本专利局提出的申请将保持休眠状态直到申请人要求专利局对其申请进行审查。从申请日起最长可延长 7 年。一旦提出了审查要求，日本专利局要 2～3 年的时间来完成审查，有时，这个审查期还会延长，因为日本有授权前的反对程序，这就意味着，一旦专利局决定授予专利，自发布日的 90 天内，任何人都可以对这个授权提出反对意见，一旦有人提出，那么审查就会延期，也许授权日会因此被推延好几年。

3. 专利申请的内容

每个国家都通过法律法规对专利申请的要求进行了规定。美国专利法第 112 条规定申请必须含有两个部分：说明书和说明权利项，在 112 条的第一款中提出对说明书的要求。

说明书应包括发明的文字叙述及其制造、使用方法和程序的叙述，任何熟悉该行业有关人士或最具关联人员，均以该完整、清晰及精简、正确之文辞即可制造并且使用其相同产品，且说明书应记载发明人实施其发明所设想的最佳方式。简单来说，有三个要求：文字叙述、可制造并使用的发明，最佳方式。文字叙述和可制造并使用的发明是普遍要求，然而最佳的方式是美国专利制度独特的要求。这个在各国的专利机构中引发了很多争议。这项要求基于这样的理论：如果申请人在提出申请前无法提供制造和使用这项发明的最佳方式，那么他们将不能获得专利保护。如果申请人没有发现最佳方式，或者故意不叙述，那么这个专利就无效了。

基于这些要求，申请通常有以下几部分构成：

- 概述
- 理解这项发明所需的背景概况
- 发明物的概论

Z

· 如何使用这项发明的准确描述，包括确切的例子和组图。

美国专利法 112 条第二款要求：申请人必须明确分析指出其所附属的说明项。这样，一个专利申请就可以成为一篇科学文章来教会这个领域的其他人如何制造和使用这项发明。这和一般的科学杂志上的文章没什么不同。申请人发明提出的要求项将决定这项发明所受到的专利保护，在审查过程中，为了克服反对意见，说明项会被不断的修改。因此，当审查结束后，人们通常发现，一个已获准的专利的说明项中定义的主体事项往往比在说明书中的少，因为说明项定义的主体事项将受专利的保护，当一个反对意见提出时，专利律师会立刻开始分析说明项而不是说明书中的描述。

所有权

专利是产权，它的所有权可以受法律、合同和法令条款的保护。在许多雇佣关系中，受雇者都会签订雇佣合同，这个合同表明雇主拥有所有受雇者的发明。在一些国家，尤其是在德国，有很多复杂的法律条款用来对受雇的发明人进行赔偿。除美国外的所有国家，专利权的拥有人可以提出申请。综观历史，美国的专利制度是基于奖励发明人这一理念的，并要求只有发明人可以申请专利。假如，根据雇佣合同，发明人必须向雇主转让其发明，那么在美国的申请还是要使用发明人的名字，并必须将注明专利权转让的转让书在专利局备案。

发明人

在大多数国家，一个专利的发明人可能与专利权拥有人有关，这个与专利的合法性无关。事实上，在一些国家，发明人也许从未在专利上提到或出现过，当然美国还是例外。正如上面所述，必须是发明人提出申请，如果不是发明人却故意提出申请，那么这个美国专利将被宣布无效。因此，根据美国法律的要求，确切的发明人是申请专利的决定性因素。

需要记住的是发明人不同于作者，发明人是以法律规定为基础的，并且是严格执行的。然而，作者就可以比较随意。发明人的确定是以第一次发明审查为基础的，由什么人（们）提出了有创造性的想法，什么人付诸了实践。想法是一项发明产生所需要的思想步骤，实践是把想法变成现实的物理过程。当存在两个或更多的发明人时，每个人都必须对要申请的发明有所贡献，但并不要求每个人对这项专利的每一个说明项都有所贡献。

在当今的研究环境中，决定发明人并不是那么直接和简单的。当然，在做出准确的决定前，必须先问些问题：这个人是不是只是根据他人的指示做些日常工作和实验？他是否对此发明有所贡献？这项发明的完成是否因为某人的特别行动？这人是否使得发明有了突破性的进展？在如今的制药研究领域，只要确定了有哪些人参与了此项发明和其研究过程，专利律师就能对“发明人”做出正确的决定，这个在专利申请的前期准备工作中是十分困难的一项。在 1972 年的一项决定中，美国美国地区法院的新法官作出了如下的评论：

想要对发明人做出明确的定义是十分困难的，这是专利法中最模糊的概念之一。

当两个或两个以上的团体进行了同样的发明时

有时，两个或两个以上的申请人制造了同样的发明，但是只有一个能被授予专利，问题就是谁能被授予专利。在除美国外的所有国家，第一个提出专利申请的人将被授予专利。在美国，专利将授予第一个发明人。

谁是第一个发明人是由一个特殊行政机构决定的，这个行政机构设于专利局，称为“抵触程序”。每个申请人都必须出示证据证明他们产生这种构思以及付之行动的最初日期。1996 年 1 月 1 日前，只有在美国进行过这类活动才能被视为证据。现在，当有了新发明，只要这个国家是世界贸易组织的成员，此类活动都可以作为证据。

在“抵触程序”中，对于证据的要求是非常重要的。发明者所进行的活动和提供的证据必须以一种方式结合起来。由非发明人提出的证据是最好的，在一些案例中其他形式的证据已得到成功的使用。因此，调查组织制定了政策和程序来管理实验室的数据。

“抵触程序”是十分复杂和昂贵的过程，专利的授予有可能因此被耽搁好几年。幸运的是，美国所有的申请者只有少于 0.5％的人被卷入其中。

专利保护的期限

根据不同国家的法律法规，已授权专利的有效期也不相同，一般为 15～20 年。在一些发展中国家，专利有效期要短得多，并且在制药工业中并没有太高的价值，因为在这个产品可以上市之前，专利有效期就已经期满了。最近，包括美国内的许多国家，都采取了自申请日起 20 年的一般专利有效期。美国在 1995 年之前都是采用自授权日起 17 年的专利有效期，最近才实行了附加法，用来弥补 20 年专利有效期内由于专利局的延误所造成的任何损失。日本专利有自授权日起的 15 年的专利有效期或自申请日起的 20 年的专利有效期，不管怎么样，专利有效期还是缩短了。

在制药工业，专利有效期是十分重要的因素。因为在一个新的药品研制的早期就要提出专利申请，并且在获得健康部门允许向公众销售之前，还要做很多的预售实验，这需要占用很大一部分的专利有效期，通常，药物产品的“实际”的专利有限期就被使用了。美国药物研究和制药商的调查发现，在 20 世纪 60 年代的早期，专利期限的实际有效期一般为 15 年，而到了 80 年代的早期，缩短为 8 年，

在日本和英国的调查结果基本相同。最近，许多重要的国家都修改了其专利法，通过专利有效期的延长条款，可以取回一部分已失去的专利有效期。

专利有效期的延长

1980 年之前，在一些国家，主要是那些曾经是英联邦的国家，可以在专利有效期结束前提出申请，来获得专利有效期的延长。如果要获得准许，专利所有人必须指出证据表明在一般的专利有效期内无法从这项已获专利的发明使用中得到足够的报酬。如果提供了上述证据，那么通过这个系统，就可以获得 4～10 年的专利延长期。

1984 年，美国通过了第一个恢复专利有效期的法令，并作为“药品价格竞争及专利回复法案”，俗称为 The Hatch Waxman Act 的一部分。对整个制药工业来说，这是个有重大意义的法令，因为它包含的条款对于创新药和仿制药而言，都十分重要。根据这个法令，仿制药的制药公司，可以提出“简化新药申请”并且在专利期满前可以做提出此申请所要求做的试验，并且不负专利侵权的责任。这项法令的第二部分是针对“新药”的，鉴于获得食品和医药部门的销售许可需要时间，所以新药的发明人可有 5 年的专利延长期。自销售许可日起，这个新药的专利有效期最长不得超过 14 年。

其他国家也随美国之后准许了专利有效期的延长。日本自 1986 年的 1 月 1 日起实施如下的法规：关于医药产品的专利可以有多于 5 年的延长期。日本与美国的条款在一些方面有所不同：首先，有超过 1 个专利的产品才能获得延长期；其次，日本法律规定在获得健康部门的许可前，专利有 2 年的延长期。韩国的专利有效期条款基本和日本的相似。澳大利亚则根据法规的延误期来延长专利的有效期。

1993 年 1 月 1 日起生效的“附加保证书”是由欧洲共同体制订的，用来对医药产品提供延长保护的系统。这些证书实际上不是对专利本身进行延期，而是对已授权上市许可的产品和任何在人类和动物身上的药品使用给予保护。根据“附加保证书”，假如一个产品不止一个专利，那么专利所有人必须选择其中一项来保护该产品。附加保证书由各个国家的专利局授权，只有在常规的专利有效期期满后才生效。附加保证书的持续时间相当于从专利申请日到在欧盟的第一个上市许可所需的时间，最少 5 年。根据欧盟的限制，附加保证书不适用于超过 5 年或自第一个上市许可日起超过 15 年的专利。

在获得第一个上市许可的 6 个月内，或者在专利授权日的 6 个月内，专利的所有人必须向欧盟所有成员国的专利局申请附加保证书。此申请必须满足如下要求：①专利还未到期；②已获上市许可；③这个产品还没有在附加保证书里出现过；④上市许可是销售此产品的第一个授权许可。

法规允许西班牙和希腊延期 5 年接受附加保证书。另外还采用了过渡条款，允许这两国自主选择附加保证书，只要它的第一个上市许可是在 1982 年 1 月 1 日，1985 年 6 月 1 日或 1988 年 1 月 1 日之后被授予的。

维持和实施专利

当一个专利被授权后，专利的所有人必须缴纳一定的费用来保持专利的有效性和保护它的合法性不受质疑或防止他人的侵权。

1. 年费（维持费）

专利从它的授权日直到它的有效期满不会自动保持有效。许多国家要求缴纳一定的费用，作为维持费，保持专利的有效。在多数国家，这些费用是以年度为单位的。直到 1980 年，美国才加入其列。美国修改了专利法，要求维持费分三个缴费年度缴纳：从授权日起计的第 3.5 年、第 7.5 年、第 11.5 年。虽然维持费每个国家都不相同，但是通常在专利的有效期内费用是不断增加的。举个例子来说，2000 年美国费用为 930 美金，接下去的两个缴费年度就要分别交纳 1870 美金和 2820 美金。在德国起始费用为 150DM，在 20 年中将会增长到 3500DM。假如专利的所有人觉得这个专利对自己和他人都不再有价值，那么他可以停止付费，让此项专利自动失效。对于专利组合的维持费是十分昂贵的。因此，许多公司都有对他们的专利组合定期的重申程序，那些对他们不再有价值的专利将被放弃。

2. 专利的无效

即使被授予了专利，专利所有人并不能保证其有效性。每个国家对专利有效性提出质疑的程序都不一样，这个取决于该国家的专利法。

美国的专利法特别指出一个已授权专利的有效性只是在一定情况下普遍适用的法定推论。1980 年之前，对一项专利的异议只能在联邦法庭提出，并作为一种侵权行为或者作为对已宣布的非有效性的宣判所进行的诉讼。后种行为只能是受到专利所有人威胁以至于在两个团体之间存在着不可调节的法律争端的团体提出。在 1980 年美国修改了专利法，基于新的优先法，允许任何人在专利局对专利提出重审请求。专利局会研究这些请求，并决定是否允许重审。这个过程不是经常使用，因为提出请求的第三方几乎没有机会来完全陈述他的意见。在 1999 年 11 月 29 日，美国通过了新的专利重审法，这个法律适用于在这个日期之后的所有专利，这大大提高了第三方的参与性。

在欧洲，必须在每个国家提出对专利的异议，除非对一个欧洲专利有较集中的反对意见。

专利的侵权

当有人使用或出售已申请的发明并没有得到专利所有人的允许时，这个专利就被侵权了。这时，专利所有人可

以对他采取法律措施来抵制这种行为。

在美国，这是在联邦法庭的民事诉讼。专利所有人可以在特定的联邦地区法庭起诉侵权者，这个法庭受联邦法律的管理。专利的诉讼费用是十分昂贵且诉讼过程是费时间的。出于这个考虑，没有经过深思熟虑一般不会提出诉讼。在这些年中，其他可以解决争端的多种方式得到广泛的使用。

由于专利受地区的限制，原厂药的公司往往可以在许多其他国家起诉侵权者。通常在那些专利制度没有像美国和一些主要的欧洲国家那样强有力的地方起诉。专利诉讼费用往往比美国低，但是却需要更长的时间。

化合物和药物成分的专利通常在它们的销售和发行的国家里被侵权。化合物的生产工艺的专利会引发不同的问题。假如化合物在一个没有其生产工艺专利保护的国家制造然后出口到其生产工艺已获专利的国家，这中间就没有直接的侵权发生。然而，许多国家的法律表明直接用已获专利的生产工艺来制造的化合物，并进行销售和使用是对这种工艺的侵权。在许多情况下，“直接”意味着获得这个化合物的最后一步。直到 1986 年，美国修改了其专利法，这些保护才在美国生效。这项修改法中包含这样一个条款：第三方可以要求化合物的生产者提供任何已拥有或已得到许可的关于此化合物生产工艺的美国专利。

市场独占权和罕见药物

制药工业中，专利主要是用来防止普药仿制商的侵权。近年来，另一个专利的重要保护形式开始兴起，这和新药开发者为了获得上市许可所花费的时间有关。因此所谓的“市场独占权”开始在美国、欧洲及日本形成。另外，“美国罕见药物法案”提供了一种特殊的市场独占权。

1. 市场独占权

为了公众的安全和避免不必要的动物临床实验，获得特许的官方能够互相交换新药开发者的申请数据，来获得既安全又有效的药品非专利信息。新药开发者如果不希望依靠交换数据获得上市许可的申请，通常被称为“减少控制申请”。市场独占权是一种暂时没有得到新药开发者的允许下对交换数据的禁止，前提是如果。如下所述，在一段特定时间之后，开发者将不能对数据的交换提出异议。这种权利与专利保护同时生效，并不需要新药制造商的申请。关于独占的期限并没有发布证书或其他文书。

在 1980 年，日本是第一个颁布市场独占权条款的国家。新产品、新化合物或不同的药物配给的期限为 6 年。对其他的形式，像新的表达方式或新的用药剂量等，市场独占权的期限为 4 年。即使第二个申请人独力地完成了安全且有效的研究，但是市场独占权还是不能被授予。

市场独占权是美国 The Hatch Waxman Act 的一部分，美国药物食品管理局对新化学实体自批准之日起，给予 5 年的市场独占权以保护新药开发者的利益；假如简化新药申请证明新化学实体的专利是无效的或是没有被侵权的，给予 4 年的市场独占权；在专利有效期内，如果该药物的儿童用药申请得到批准，该药可以延长 6 个月的专利保护期；为了促进仿制药的尽快上市，减轻消费者和国家负担，鼓励仿制药生产商对现有专利药物进行挑战，对于挑战成功者给予 180 天的市场独占权。另外，美国药品管理法规（CFR21title）规定对符合下列条件的新药给予 3 年的市场独占权。

（1）如果新药申请满足下列条件：①依照 USC505（b）条件申报新药；②新药在 1984 年 9 月 24 日以后批准；③该药物活性成分在以前另一申请中曾得到批准；④包含了由申请者发起的、新药申请所必需的临床研究报告（不是生物等效性）。

（2）如果一个新药补充申请：①在 1984 年 9 月 24 日后被批准；②包含了由申请者发起的、新药申请所必需的临床研究资料（不是生物等效性）。

在欧洲国家，市场独占权更加复杂。一般来说，每个国家可以选择 10 年和 6 年这两个期限。根据欧盟 87/21 法令，自欧盟的第一个上市许可后，各个国家可以对医药产品进行 6 年或 10 年的保护。而生物产品，其在所有欧洲国家都可以申请 10 年的保护。表 3 说明了可以提供 6 年或 10 年保护的国家。

表 3 欧洲市场独占权

10 年	6 年
英国	丹麦
澳大利亚	芬兰
法国	希腊
德国	爱尔兰
比利时	卢森堡
荷兰	葡萄牙
意大利	西班牙
瑞典	

2. 罕见药物

用来治疗稀有疾病的药物被称为罕见药物。《美国罕用药物法》规定，FDA 不会在第一个申请批准的 7 年内批准另一个申请，除非原申请人无法保证药物能满足患者需要。这个法令在 1985 年得到修改，同时适用于专利药和非专利药。可以作为罕见药物的有：①在美国有少于 200 000 的人得此病；②从在美国的销售中收回研发费用是不大可能的。要想成为罕见药物，必须向美国药物食品管理局提出申请。决定其是否符合要求的日期作为申请日。这个 7 年的市场独占期限仅仅适用于个人对化合物或产品的使用，并不适于化合物本身。

日本于 1993 年 10 月颁布了一项法令，指出政府可以对罕见药物提供特别待遇，比如可以加快审查、提供 10 年的市场独占权和免收税款等。凡是用于患病者少于 50 000 人的疾病，或者为治疗这种疾病而进行的必要的临床实验都可以称为罕见药物。

在欧盟并没有特定的罕见药物法规。其他国家目前还没有关于罕见药物的市场独占权规定。不过一些国家的条例规定可以加快批准这些药物的专利申请。

参 考 书 目

Grubb, P. W. Patents in Chemistry and Biotechnology; Clarendon Press: Oxford, 1986.

Rosenstock, J. The Law of Chemical and Pharmaceutical Invention: Patent and Nonpatent Protection, 2nd Ed.; Aspen Law and Business: New York, 2000.

Wallerstein, M. B. Magee, M. E.; Schoen, R. A. Global Dimensions of Intellectual Property Rights in Science and Technology; National Academy Press: Washington, DC, 1993.

（罗大忱 译）

Z

Z

专利：美国观点

Lorie Ann Morgan
GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, North Carolina, U. S. A.
Jeffrey Tidwell
University of North Carolina, Chapel Hill, North Carolina, U. S. A.

引言

在美国，药物专利的重要性随着仿制药产业的快速发展而得到了不断提高，并且已对研发药产生了威胁。研发药优势在于能够源源不断地为治疗疾病和提高生活质量提供更新更好的药物；而仿制药的优势在于价格较为便宜且功效与研发药相似。专利则为研发药提供了一个补偿机会，用来弥补在研制过程中巨大的投资花费，同时，专利也对仿制药有一定的限制作用，当一个药物专利生效时，仿制药的制造商将不能对其进行侵权。在 1984 年 H/W 法修改案中，对这两者进行了阐述，即如何通过 FDA 繁琐的重审以获得仿制药的制造权和如何维持专利保护权以激励新药的进一步研制之间的平衡。

发明专利

专利权利要求的种类

医药公司每年为了研制出新的药物，不惜投入大量的人力、物力，所以如何保护这些新兴药物和技术就变得至关重要。美国专利法对如何保护这些研发药进行了规定，保证其享有 20 年的市场独占权。当申请专利时，发明人在权利要求书上注明想要受到保护的客体，发明专利的保护范围是由专利中的权利要求界定的。

可申请专利的客体有“任何人发明或发现新而有用之方法、机器、制品或物之组合，或新而有用之改良者，皆得依本法所定之规定及条件获得专利[1]”。专利法规定专利只能被授予那些有用的新发明，这不包括那些还未被证实安全或有效的新药，或那些只能作为中间体使用的化合物。当然，对于那些具有治疗效果或有药理活性的药物人们也给予了特别考虑。如果一个化合物作为中间体能够制造具有药理活性的药物，也可以申请并寻求专利保护，因为它满足了“有用”这个条件。在一些情况下，药物并不一定非要显示出它对人类的治疗效果才能申请专利，只要能够证明它对动物的药理活性或在体外实验中有效即可。假如这个专利是为了申请一个对人类有用的药物，那么发明人就必须罗列出这个药物对人类是安全且有效的证据。

同一个新药也许会有好几个专利。因为一个发明可以用不同的方式来申请。我们可以为药物本身申请专利，可以为此药物的新用途申请专利，也可为获得此药物的途径申请专利。

1）物质组成

专利权利要求项中陈诉的特定的新颖产品或药物的组成就是所要受保护的客体。对特殊化学实体的权利要求可以防止他人制造、使用、销售、许诺销售或为上述目的向美国进口该产品。对方法专利，专利权所有人有权禁止他人使用该方法和制造、许诺销售、销售、使用或为上述目的进口该方法直接制造的产品。

从作为药物候选物的简单有机物到复杂的生物分子组成都可以提出专利权利要求。例如，组成物的权利要求可以包括蛋白质、质粒、DNA/RNA 序列和药理学受体等。

在制药产业中，另一个可以申请专利的重要领域是“活体生物”专利。在过去的几年里，随着生物技术的进步，“活物”专利有了显著的增长。结果，法院不得不裁定人造生物能否作为专利申请的客体。虽然对于这个问题的争论一直不断，但是现在关于人造生物的专利大家已达成了较公平的协议，基因工程动物、纯种培养生物、基因工程微生物等可以作为专利申请的客体。

2）天然药物

医药产业的另一个重要领域是那些可以申请专利的来源于自然的药物。在过去的几十年里，来源于自然的药物产品得到了飞速的发展，例如用来治疗人类疾病的植物等。相关的法律指出天然药物是以自然形态存在并非新颖的。即使此药物是通过新颖的方式提炼出的，或是用来治疗新的疾病的。天然药物通常不能作为专利的权利要求客体。然而，天然药物可以通过两种方式来申请专利：一是可以申请获得“使用方法专利”，即此天然药物有新的生物或药理活性；二是可以以此天然药物的人工合成替代物来申请“组成专利”，这个替代物将不被认为是以天然形态存在的。知道这点是十分重要的，因为许多新药都是人工合成的，且与天然药物十分相似。

3）方法专利的权利要求

方法专利的权利要求有两类：一是制造方法（生产工艺）权利要求；二是使用方法权利要求。发明人可以直接在权利要求中对新药的合成方法申请专利保护。对生产工艺的权利要求可以防止他人通过已获授权的制药方法来获

取新药。另外，《方法专利修正案》[2]指出发明人有权禁止他人向美国进口已获授权的药物，或为上述目的进口该方法直接制造的产品。但是生产工艺专利无法防止他人通过其他未授权的方式制造或使用该药物。所以说方法专利的权利要求虽然可以对新药起一定的专利保护作用，但是相对于以新药本身申请的专利而言，局限性就比较大了。

另一个方法专利的重要领域是关于以新颖的方法获得合成的化学或生物目标分子的专利。过去的十年是生物化学和组合化学专利飞速发展的十年，特别是当它们应用于药物研发时更是如此。这些产生大量生物分子的新方法，像 DNA、蛋白质，以及制备用以筛选药物候选物的化合物“库”的新技术，使这种专利应用呈指数增长。通常，这些新技术可以作为专利申请的客体，并可以获得专利。

使用方法专利是关于发明使用方法的专利。对制药产业来说，使用方法专利就是特定药物治疗特定疾病的用法。FDA 所授权的新药即是根据其在实践中的使用，因此，此类使用方法权利要求为发明人提供了重要的专利保护。这些权利要求是十分重要的，因为它为专利提供了除物质组成权利要求之外的保护。对于那些已经是物质组成专利客体的药物或无法再申请物质组成专利的药物来说，此药物的治疗方法权利要求就十分重要了。例如，一个发明人可能发现已知药物未知的抗炎特性。发明人无法获得该药物质组成的专利保护，因为该药物已在文献中出现过，那就不满足专利的新颖性要求。然而，发明人却可以根据此药物新的抗炎特性获得其使用方法的专利权利，因为此特性是不为人知的。

4）化学中间体

通常，如果一个新的化合物是用来作为其他化合物的中间体，并且所制造的化合物用途尚不明朗，这个中间体化合物将不能申请专利；反之，它所制造的化合物已经被证实有用途，那就符合“有用”这个条件，这个中间体化合物就可以申请专利。当化学中间体是可商业化的药物合成路径的关键的稳定中间体时，对它们提出专利申请就显得特别重要。因为可以防止他人仅仅出于商业目的来使用它们合成药物。

5）处方

在专利的权利要求中，我们可以对一个药品的处方提出专利保护请求。处方的权利要求可以防止他人制造、使用、销售、许诺销售，或向美国进口已获授权的药物处方。这个权利要求为延长药物的专利保护期提供了机会，部分因为 FDA 授权新药是根据新药的配方。处方权利要求不能为发明人提供独占权，但是处方权利要求的有效期在药物专利有效期之后，这点对于尽可能长久的保持最大的市场占有率是十分有用的。

6）延展性权利要求

最近医药专利新兴了一个权利要求，即延展性权利要求。举个例子来说，在专利中陈述了获得某种治疗疾病的药物的特别药物筛选试验，但是没有完全详述这个试验所可以获得的所有药物，就可以提出延展性权利要求。这些权利要求一旦被准许，就可以由销售这些药物得到版税，用来弥补在开发研制过程中的花费。小型生物化学公司十分欢迎这个特殊的策略，因为他们为了开发新的技术或药物已投入了大量的资金。一些成功获得延展性权利要求的案例有 Cohen-Boyer 的 DNA 重组技术、哈佛重组肿瘤老鼠和 ROCHE 聚合酶链反应。关于延展性权利要求的法规还在商讨中。

直接对药物组成的权利要求通常能够获得最大的专利保护范围。然而，任何一个单一的专利要求都不能提供最佳的专利保护。对专利权所有人来说最好的保护是建立专利组合，每一个专利都针对药物的不同方面。例如，发明人可以就化合物本身获得物质组成专利，也可以就其制造方法获得专利，还可获得相关其配方的处方专利以及关于其治疗用法的专利。总之，组合专利将在最大范围内保护新药，仿制药制造商必须全面了解专利所涉及的范围，防止发生的侵权。

发明者的独占权

1. 专利独占权

1.1 专利有效期

在 1995 年 6 月 8 日之前，专利的有效期为自授予专利日起的 17 年。然而，根据《乌拉圭回合议定书》有关条款规定，美国专利法于 1994 年做了修改。此协定书指出专利有效期为该专利申请日起的 20 年[3]。根据 URAA 所做的修改，并没有延长专利有效期，不过是使美国专利法与其他国家的相一致。在作为先前已提出申请的继续或分案提出申请的情况下，第一次美国优先权申请的提出日是计算 20 年期限的开始的日期。依美国专利法第 119、365（a）或 365（b）条内容规定优先权不计入专利权期限。例如，发明人在 1995 年 6 月 10 日提出了一个专利申请，且该申请和之前的美国专利申请没有任何关联，专利有效期将到 2015 年 6 月 10 日。然而，如果在 1997 年 1 月 23 日提出专利申请，并且是 1995 年专利申请的延续申请，它的专利有效期也是 2015 年 6 月 10 日。权利申请先于之前的国外专利申请的专利，它们的有效期是相同的。

对那些最近才生效及在 1995 年 6 月 8 日之前提出申请的专利，专利有效期为自授权日起的 17 年或自第一次美国申请日起的 20 年。假如已授权的专利在过渡期间内失效，则可以申请专利有效期的延长；假如已获授权专利期限自第一次美国申请日起的 20 年晚于自授权日起的 17 年到期，则可以申请专利有效期的延长。因此，根据 URAA20 专利有效期的条款，任何专利都可以提出自专利申请日起由于上诉复审所花费的最多 3 年的有效期延长。

Z

在1992年3月1日提出申请的美国专利及在1994年4月1日授权的专利，则根据过渡期来计算专利的有效期。自专利授权日起17年到期的专利将于2011年4月1日到期；自第一次美国申请日起20年到期的专利将于2012年3月1日到期。这样，专利就有了11个月的延长期限，此规定同样适用于在URAA条款颁布之前已获授权的专利。

除了这些条款，美国议会于1999年通过了《专利保护期保证法案》作为《美国发明人保护法》的一部分。《专利保护期保证法案》于2000年5月29日生效，此法案允许申请人因专利局和商标局的延误审核而申请延长专利期限，也可因在上诉复审中所花费的超过3年的延误而申请延长专利期限。总之，只要在专利授权期间由于诉讼程序及重申等造成的延误均可申请专利有效期延长。专利申请人在诉讼其申请的过程中积极配合参与的，都能获得最少17年的专利有效期，该法案只适用于在2000年3月29日及之后提出专利申请的专利。

1.2 专利期限恢复

药物专利、药物使用专利或药物制造方法专利根据《专利期恢复法》[4]都可以申请专利期的延长。这样就能弥补在规定审查过程中所造成的专利期限的损失。只有获得法律准许，发明人的专利才具有商业价值，也就是说，直到完成漫长的审核程序，专利的发明人才能从其发明中获益。能获得专利有效期延长的专利必须是产品或产品制造或使用方法专利，并且必须满足如下条件：之前未被延期过；申请人必须在授权日之后的60天内提出延期申请；该专利所涉及的产品在上市及使用之前必须满足规定的审查；获得的上市许可是该专利的第一个上市许可；该专利还未到期且在相同的审查期间内，没有其他的专利期限延长许可[5]。虽然一个简单的产品可能有许多专利，但是根据条款，每一个产品只能有一个专利可以延期，并且只有其所获准的权利要求才能延长其有效期。

专利期限可以延长的时间长短取决于法定规范审查的时间长短。可以延长的时间为从原创药试验期到新药授权日这段期限的一半，减去在专利授权日之前申请专利延期之申请人并未展现其应有之努力表现的时间[6]。专利有效期最多可延长5年[7]；自FDA授权日起，专利有效期及其延长期之和最多不超过14年[8]。

根据URAA，专利有20年的有效期限，这就产生了一个问题，专利申请人能否根据URAA延长法来获得较长的专利期限。这个问题的关键在于申请人能否同时从URAA及其延长法中受益。联邦巡回上诉法庭就受理的Merch Co. V. Kessler案件[9]，在这个案件中，法庭主张根据URAA及其延长法，专利的有效期应为自申请日起的20年并加上延长期。除非此专利在1995年7月8日生效，那么只能根据URAA延长法来计算其实际专利期限，换句话说，根据上述法规，除了在1995年7月8日之前17年的专利期限已满的专利，其他专利都必须根据《专利期恢复法》执行。遗憾的是，鉴于《专利期恢复法》联邦巡回上诉法庭的主张无法适用于在1995年7月8日生效的专利，不过很少专利受此疏忽的影响。

2. FDA市场独占垄断期

除了专利的独占权，新药发明人还可以根据FDA市场独占垄断期保持其药的市场占有率。FDA市场独占权并不授予发明人销售此药的权利，但可以延缓仿制药制造商的简化新药申请。

FDA市场独占垄断期的长短取决于发明人开发新药的时间。相关法规指出自1984年9月24日之后授权的新药，到发明人获得第一个授权日起的5年期满时，仿制药制造商才能提出简化新药申请。但有一个例外[10]，假如仿制药制造商的简化新药申请能够证明该新药专利是无效的或者能够证明没有对该新药专利侵权，就可以在5年期满之前提出申请[11]。对于通过新的临床试验对已获授权药物再提出的新的新药申请，享有3年的市场独占垄断期，在此期间其他人不能就此新药提出任何简化新药申请[12]；通过新的临床试验而提出补充新药申请也享有3年的FDA市场独占垄断期[13]。

美国于1998年通过了《食品和药品管理局现代化法》，该法案指出对于儿科患者的临床试验可以获得另外的独占期（称为儿童用药独占权）。这个独占权的作用旨在激励儿童用药的发展。根据法规，任何已获授权的药物在其专利有效期或其他独占期结束后，还可以享有6个月的市场独占期[14]。想要获得儿童用药独占权，发明人必须获得FDA的书面要求才能进行儿科研究，发明人在收到FDA书面要求后向其递交研究报告，并且必须满足书面要求的所有条件。申请人可以请求FDA发布申请儿童用药独占权所需要的要求。此种做法不仅可以鼓励企业在研究和试验儿童用药方面增加投入，还可以保障任何具有相同活性成分的新配方、新剂量及新剂型的药物。

3. 对仿制药制造商提出的关于发明人独占权的公告

FDA在其出版物《FDA所批准的药物清单》（黄皮书）中公布了已获批准药物的FDA独占权和专利独占权的信息。在该清单中，详细阐述了包括儿童用药独占权在内的所有类型的FDA独占权及每一个已获批准药物的到期时间。黄皮书中的专利信息来源于发明人。发明人有义务告之FDA其任何已获批准药物（活性成分或配方）专利，或其治疗方法专利的专利号及到期日[15]。发明人必须正确及时地更新专利信息，防止他人申请已获批准药物的专利。发明人可以通过更新专利信息来获得专利有效期的延长。向FDA递交专利信息可以保证仿制药制造商时刻注意发明人的专利权利，并以发明人的专利权利为行动依据进行简化新药申请，避免侵权的发生。出于上述考虑，发明人必须及时地提供其专利信息，而为了参与竞争，仿制药制造商必须及时地获取黄皮书中的专利信息。

Z

仿制药竞争

仿制药制造商如果想仿制发明人的新药，使其商业化，就必须满足两个相关条件：FDA 的上市许可和发明人的专利数据。除了满足上述的条件，仿制药制造商所生产的仿制药还必须与已获批准的药物有相同的成分、生物活性和标签[16]；仿制药品的申请者们在其简化新药申请中必须包含一个“黄皮书”——列有创新药物的每一项专利的证明书[17]。该证明书必须声明以下情形之一：

- 没有提交与此专利有关的必需的专利信息；
- 该专利已过期；
- 该专利将于某一特定的日期届满；
- 该专利是无效的，或者说，如果批准正在申请的该药物，不会侵犯此专利。

第一种情形证明书说的是仿制药制造商必须证明所要提出简化申请的新药还没有根据法规的要求提交其专利信息。这一种情况适用于当已获批准的药物没有相关的专利或者新药发明人没有成功罗列出涉及其已获批准新药的所有专利。除了一些很老的药物，几乎所有的新药都有专利，因为新药发明人为了获得上市许可付出的投资是十分巨大的，如果没有专利独占权就直接把其新药商业化是不可行的，因为在独占期间，发明人可以收回由于研究和发展所花费的大部分投资。然而第一种情形还包括发明人没有成功罗列出涉及其已获准新药所有专利的情况。假如发明人没有成功罗列出涉及其已获批准新药的专利，那么简化新药申请人就可以对已获准药物未列出专利的所有项目提出简化申请，并附上第一种情况证明书。如果证明书中声明的是这种情形，该简化新药申请只要其他部分符合条件，可马上被批准，阻止发明人获得 FDA 独占权。

第二种情形证明书说的是仿制药制造商必须证明该药物专利已过期。这个证明书通常适用于旧药，因为简化新药申请人一般在新药发明人的专利正式到期之前就提出申请。如果证明书中声明的是这种情形，该简化新药申请只要其他部分符合条件，可马上被批准，阻止发明人获得 FDA 独占权。

第三种情形证明书说的是仿制药制造商必须证明该专利将于某一特定的日期届满，并请求在那一天获得上市许可。在这种情况下，FDA 可以在专利期满前暂时批准仿制药制造商的简化新药申请，但是并不代表仿制药制造商得到了完全的许可来制造该药；直到该专利到期，仿制药制造商才可以从事该药的商业活动。

第四种情形证明书说的是仿制药制造商必须证明该专利是无效的，或者说，如果批准正在申请的该药物，不会侵犯此专利。在后面的“侵权”一节中，我们会着重讨论这个问题。

在某种意义上，只要能够避免对发明人专利的侵权，简化新药申请就能被批准。想要避免侵权的发生首先就要充分了解已获特定批准药物的特定专利。

了解关于药物的专利

1）橙皮书

仿制药制造商可以通过多种途径了解他所希望仿制的药物的专利独占权范围。发明人必须向 FDA 递交关于新药产品、配方、或新药特定的治疗使用专利清单[18]。这些专利会在黄皮书中出版。所以递交专利信息必须十分及时。任何在批准之后才公布的直接对药物的专利必须在公布日起的 60 天里向 FDA 递交其专利信息。这样就能保证黄皮书里的信息是现行的。虽然 FDA 没有明文规定要求发明人向其递交专利信息，但是有时法庭可以对没有遵守规定者有一定的惩罚，如果发明人在开庭前没有向 FDA 递交其专利信息，即在黄皮书中关于该发明的内容，那么法庭可以驳回发明人关于简化新药申请人侵权的诉讼[19]。法庭做出裁决的理论依据是因为美国议会主张，简化新药申请人只有查阅了黄皮书才能知道已存在的已获授权的药物及其使用专利。

通过查阅黄皮书已获授权药物专利、配方专利和治疗方法专利是正确的。然而 FDA 没有要求发明人在黄皮书中注明其生产工艺专利，这样仅仅参阅黄皮书就无法全面地了解此药物的专利。为了了解已获批准药物的生产工艺专利，1988 年通过了《方法专利修正案》，要求发明人在收到书面要求后提交特定药物的生产工艺专利信息。

2）《方法专利修正案》的要求

1988 年颁布的《方法专利修正案》鼓励仿制药制造商向专利发明人或专利权所有人“请求公开”其专利药物的制作工艺[20]。为了防止随后可能发生的侵权诉讼，提出这种请求的仿制药制造商必须有良好的信用[21]。“请求公开”申请必须由从事制造该药物的人以书面的形式提出，请求专利权所有人揭露其所拥有之全部方法专利或许可使用之方法专利，假如被无授权使用者进口、销售、许诺销售或在美国境内使用，那么专利权所有人就可以声明其专利权遭到侵害[22]。提出此请求者必须是在美国境内经常从事于销售、制造相同产品，或试图于美国境内销售相同之产品的人[23]；又必须在仿制药制造商初次进口、使用、许诺销售或销售该产品之前，提出请求[24]；还必须由提出请求者声明，发明人所有的专利都授权于制造商或供应商，并且供应商向仿制药制造商要求书面形式的声明，声明其在制造该产品时，并未使用该方法专利内所涉及的生产工艺[25]。

在收到“公开”请求后，专利权所有人出于善意的表现必须在合理的时间内进行回复，但是如果该药物已在发明人收到请求之前被标上了方法专利号，那就无须回复了[26]。

黄皮书和《方法专利修正案》是获知关于发明人专利药独占权的有效途径。但是在开始进行相关的仿制药研究之前，仿制药制造商必须先独立地进行调查研究专利文献，

了解与该专利相关的其他专利。举个例子来说，不是发明人的专利持有者也许会影响甚至阻止其仿制药的商业化。不是发明人的专利持有者不受这些法规的限制，所以如果不经过对专利文献的调查研究，想要全面的了解专利恐怕就不是什么容易的事情。

发明人的专利实施

1. 专利侵权的基本概念

侵权的定义为没有经过发明人的许可，擅自制造、使用、销售、许诺销售，或向美国进口已获专利授权的发明[27]。

专利的侵权只发生在专利的有效期内。一旦专利到期，这个发明就属于社会的，那么可以任意制造、使用、销售及进口了。侵权通常是大量的生产、使用、销售、许诺销售或进口已获专利的产品，然而，所侵权的产品数量与对专利权所有人的赔偿息息相关。

侵权责任受地区限制。只有在美国生效的专利发明，在美国被侵权时，侵权人才要负侵权责任。专利权所有人不能阻止其他人在美国之外制造、使用或销售其专利产品，除非专利权所有人在使用其专利产品的地方都申请专利。

根据1988年的美国《方法专利修正案》[28]，如果没有专利权所有人的允许，任何人在国外使用在美国获得生产工艺专利的工艺制造产品，并进口到美国的，是对该专利的侵权。换句话说，没有获得授权的第三方如果在美国之外使用并未到期的生产工艺专利所述的方法制造产品，并将该产品进口到美国，是要负侵权责任的。虽然此产品是在美国之外制造的，但是只要它进口到了美国，专利权所有人就可以获得赔偿。下列情况不属于侵权：①产品有了物质的变化；②产品成为另一产品的非本质组成部分。参见 Eli Lilly and Company v. American Cyanamid Company 案件[29]，此案件的焦点即是什么构成了药物产品的物质变化。

2. 侵权的种类

一个有效的专利赋予专利持有者这样的权利：在专利有效期内，其他人不能制造、使用、销售、许诺销售、或进口其已获专利的产品[30]。任何人如果未经专利权所有人的许可，违反上述条款，即是对此专利的侵权。一个产品的侵权分为字面侵权或等同理论，又称等同侵权或依据等同理论的侵权。

2.1 字面侵权

撰写权利要求是一个非常复杂的过程。它涉及撰写人是否已经清楚了解应受保护的发明及受保护的范围，并且能否在此基础上清楚而准确地表述受保护的范围，其中包括对专利权利要求的理解、对专利说明书的理解、对专利诉讼历史的了解，及对其他的权利要求的了解。每一个权利要求中的要素都必须使用简单易懂的语言，除非发明人在专利说明书中注明了某个词语有特殊的含义。一个产品或生产工艺是否造成侵权关键取决于对专利权利要求的理解，而不是在专利说明书或其他商业出版物中对此产品的具体描述。因此，在专利权利要求中所使用的语言是不需要考虑产品就能被理解的。

字面侵权主要是针对每一个权利要求中的要素，而不是整个发明。一个产品是否造成了侵权取决于该产品与某一专利的权利要求书相比，是否具备了权利要求书中的每一个技术要素，或者说权利要求书里的每一个技术要素都可以在被控侵权的产品中找到[31]。假如一个产品或生产工艺没有利用任何一个权利要求书里技术要素，那么就不能被控侵权。如果经过调查，发现侵权人仅仅是添加了未在权利要求书中出现过的技术要素，但在被控侵权的产品或生产工艺中能够找到权利要求书里的每一个技术要素，那么侵权人将要担负侵权责任。

2.2 等同侵权

即使侵权人没有造成字面侵权，他也有可能造成等同侵权。所谓等同侵权是指：被控侵权产品或生产工艺中的一个或几个技术要素虽然与权利要求书中的技术要素不一样，但二者只有非实质性的区别；或者说，在专利法看来，被控侵权产品或生产工艺中的一个或几个技术要素等同于权利要求书中的某一个或某几个技术要素[32]。

要判断被控侵权产品是否与权利要求书中的技术要素有实质性的区别，必须参考很多因素。假如被控侵权的产品基本与权利要求书中的技术要素一致，那么就构成了侵权[33]。当然这不是衡量是否构成等同侵权的唯一标准，假如被控侵权产品或生产工艺中的一个或几个技术要素虽然与权利要求书中的技术要素不一样，但二者只有非实质性的区别，也构成等同侵权。另外，如果通过自己的努力，虽然是围绕着已有的专利权利要求，但是是以加入自己创新为基础而制造的产品，则不构成等同侵权。

联邦巡回上述法庭最近对等同侵权做出了更加严格的规定。在 Festo Corp. v. Shoketsu Kinzoku Kogyo Kabushili Co., Ltd[33a]一案中，法庭主张在专利申请的诉讼期内，如果因为申请专利的需要而对专利权利要求做出修改，在以后指控第三人侵权时不得反悔。如果专利权人在专利侵权诉讼中反悔，将已经认可不属于其权利要求保护的技术内容扩大解释为属于其专利保护的内容，受诉法院将不予支持；这点同样适用于以不知名的理由的在诉讼期内修改其专利权利要求。

2.3 禁止反悔原则

等同原则是一种权利要求解释规则，在确定专利范围时不是局限于字面词语，而是将权利要求的所有等同形式纳入专利范围。禁止反悔也是一种权利要求解释规则，在解释专利范围时，禁止将审批程序中已经取消或丢弃的内容重新纳入保护。专利权所有人能够扩大其专利权利要求

的范围既受先有技术的限制又受禁止反悔原则的限制。

先有技术限制了专利受保护的范围，因为发明人所申请专利的发明也许会对以前的专利产品构成等同侵权。也就是说，专利权人在申请专利之时，要预测所有可能对先有技术构成的等同侵权。

禁止反悔原则是对等同原则的一种限制。禁止专利权所有人将诉讼过程中已经取消或丢弃的内容重新纳入保护。任何在诉讼过程中已被放弃的权利要求将不构成等侵权。

如果侵权人是自己独立研发出被控侵权产品，且对此产品的专利毫无知晓，那么将不负侵权责任，但是必须提供独立研发出此产品的证据。

3. 应对专利侵权的策略

应对专利侵权的一个重要策略是宣告此专利权无效。专利一旦被公布即生效，然而，被公布的专利有时会因为某个或某些原因被宣告无效。美国专利法第 102 和 103 条详细阐述了可以获得专利权的条件（根据其他条款是可以对专利提出质疑的），尤其是当质疑者提供出上面所说的先有技术等证据时，证明专利无效就容易得多了[34]。

根据美国专利法第 102 条 a 项，假如在专利申请人发明及申请之前，其发明已在该国为他人所知或使用，或在国内外已获准专利或在印刷刊物上公开发表的，所申请的专利就是无效的[35]。参照此条例，质疑者必须证明在发明人发明此产品之前，此产品已被大家所知或使用，即专利权所有人并不是第一个发明此产品的人。

根据美国专利法第 102 条 b 项，假如在美国申请专利一年前，该发明已在国内外获准专利或在印刷刊物上公开发表，或在国内为公开使用或销售的，此专利无效[36]。也许已经有人在发明人之前发明了他所发明的产品，并已经进行了专利注册，但是我们可以发现在此专利的权利要求中是否涵盖了您要申请的专利。然而，必须提供第二证明文书，用来证明先前的证明书已在某个专利中出现过。

如果某项专利未来自真正的发明者，那么这个专利也是无效的[37]。一个专利只能列出那些对某个或某些权利要求有贡献的人的名字。假如一个专利包含不是发明人的其他人或者未包含某个或某些真正的发明人，抑或是出于欺骗的目的来篡改发明人，那么此专利视为无效。

美国专利法第 103 条指出，所申请的发明的已被明显或者隐含地包括在作为评估创造性的对比文献中；所申请的发明可以从该技术领域的一般知识推论出来；所申请的发明可以从一个已经确定的商业原则推论出来；所申请的发明是将一个已经见诸于行业手册的标准商业过程用计算机自动化；所申请的发明与以前所有的发明相比只体现在它存储或者处理的数据上；所申请的发明只与公认的一般技术水平相当，则该专利无效[38]。根据 103 条要决定专利有效性，必须考虑下面几个方面[39]：

- 先有技术的内容和范围；
- 先有技术和已申请发明之间的不同；
- 相关的技术水平；
- 非显而易见性的辅助性考虑（评价所有与非显而易见性的有关的证据）。

辅助性考虑包括商业成功性、需求的持久性、他人的失败、复制、在工业中他人的赞扬、脱离技术原则及对此发明的普遍认知。

4. 对专利侵权的补救

对于专利侵权，有几种补救的方法。专利权所有人可以获得一个法院的强制令来制止侵权者未经许可制造已获专利的发明[40]。首先获得强制令是十分重要的一个措施，因为它能立即终止侵权行为，而不需要通过漫长的司法程序先认定侵权存在，再采取措施。

专利权所有人也可以对由于侵权者的行为所造成的损失，提出相应的经济赔偿[41]。决定专利权所有人可获得赔偿数目的方法有很多，比如说，其金额可以根据侵权所造成的利益损失来计算。不管怎么样，专利权所有人所获得的赔偿不会少于实施其发明所应得的版税[42]。

对于任意或故意侵权，专利权所有人将会获得其经济损失 3 倍的赔偿，包括律师费[43]。

5. 根据 H/W 法，仿制药制造商可以免除的侵权责任

H/W 法的颁布，既为了对新药进行保护以鼓励新药的继续开发研制，又为了人们能以较低的价格获得新药的仿制药。仿制药制造商为了获得 FDA 的上市许可，必须要做一些试验，在一些情况下，可以免除其侵权责任。假如仿制药制造商制造、使用、销售、许诺销售，或向美国进口已获专利的药物是为了发展的需要或获得联邦法定的许可证（FDA 上市许可）[44]，可以在专利期满前制造、使用或进口该专利药，以及在专利期满前就进行 FDA 的审核程序。允许从事这些活动的目的在于，使得仿制药制造商在该专利到期的那天就能获得 FDA 的上市许可，防止专利权所有人既从专利期限内的独占期获益，又从简化新药申请的审核期内获益。

H/W 法并不意味着仿制药制造商在专利期满前开始从事商业活动甚至获得 FDA 上市许可能免除侵权责任。H/W 法的条款同样指出简化新药申请的提交是为了在专利到期前获得上市许可从而进行商业活动，那么这个仿制药制造商是要负侵权责任的[45]。

即使包含Ⅳ情形证明的简化新药申请也可能构成侵权，Ⅳ情形证明是指，专利是无效的，或者说，如果批准正在申请的药物，不会侵犯该专利。如上所述，提出包含Ⅳ证明的简化新药申请人必须向专利权所有人发布公告，告之其递交了该简化新药申请。这样就能保证专利权所有人收到公告，保障其开始调查侵权的权利。如果在收到公告之后，专利权所有人决定对包含Ⅳ情形证明的简化新药申请提出侵权诉讼，那么必须在收到公告的 45 天内提出诉讼[46]。这样能够停止 FDA 对此简化新药申请的审核，并且仿制药制造商在专利权所有人收到公告的 30 个月之后，

才会获得上市许可[47]。法庭可以根据双方在诉讼中的表现缩短或延长30个月的期限[48]。例如，假如法庭在30个月到期之前，发现该专利是被侵权且有效的，那么简化新药申请不可能在专利期满前就获得批准[49]，即使30个月的期限在专利期限之前就到期了。反之，如果法庭发现该专利是无效的或未被侵权，那么简化新药申请在法庭裁决的那天即被批准[50]。

这些条款可以被总结如下：仿制药制造商如果想在专利期满前就获得FDA的批准，就必须提交包含Ⅳ情形证明的简化新药申请，此情形证明旨在说明对该专利药的仿制没有构成侵权或该专利是不可实施的，且无效的。递交这样的简化新药申请的申请人必须向专利权所有人发布公告，告之其已递交了这样的简化新药申请并详细说明其没有侵权或此专利无效的理论依据。假如专利权所有人未对该简化新药申请的真实性提出质疑，那么该申请将立即生效，仿制药制造商就能开始进行该药的商业行为。假如专利权所有人在收到公告的45天内对该简化新药申请提出反对意见，那么该简化新药申请在专利权所有人收到公告的30个月之后才会被批准，或者到该专利期满时被批准，抑或是当法庭裁决该专利无效或未被侵权时被批准。

5.1 根据简化新药申请，发明人可获得的侵权补救

一旦法庭发现包含Ⅳ情形证明的简化新药申请对专利构成了侵权，就考虑专利权所有人采取什么样的补救措施。法律明确指出专利权所有人不能获得法院的强制令，用来制止仿制药制造商仅仅是为了在专利期满时获得FDA批准的制造、使用、销售、许诺销售或进口该专利药[51]。这项条款防止专利权所有人利用Hatch-Waxman法案的有关条款按侵权的定义明确排斥这些活动。然而，法院的禁令可以阻止仿制药厂商上市该仿制药。

金钱赔偿是一个有效的赔偿方式。但是由于简化新药申请没有被批准，那就无法衡量将会造成的经济损失。同样，所谓的故意侵权所产生的3倍的赔偿及律师费事实上也无法衡量。也许，对于专利权所有人来说，最可行的补救是侵权行为无法获得FDA的批准。没有FDA的批准，仿制药无法商业化，这样，就保护了专利权所有人的独占权。

5.2 案件分析：Bayer AG对Elan制药公司

在Bayer AG公司和Elan制药公司的案件中[52]，H/W法得到了充分的使用。Bayer AG公司对用于治疗高血压的药物硝苯地平提出了专利申请，并于1993年11月获得了美国专利，专利号为5264446（简称446专利）。此专利对硝苯地平的物质组成、制造方法和使用方法都提出了权利要求，目的在于说明此药的缓释作用。该专利有12个独立的权利要求，且每一个权利都要求详述了在制造药片的过程中所使用的硝苯地平晶体的比表面积。446号专利特别指出为了获得药物的缓释作用，在固体稀释物的混合物中的硝苯地平晶体的比表面积为1.0～4m²/g。

1997年4月，Elan公司向FDA递交了一个简化新药申请，在此申请中的药物与Bayer AG公司的药物具有生物等同性，都将硝苯地平作为药物的活性成分。Elan公司的简化新药申请是关于单日一次的含有30mg硝苯地平且其比表面积不小于5m²/g的药物配方。根据联邦法规[53]、Elan发布了其简化新药申请的公告及Ⅳ情形证明中所述的证明书，表明其将要制造和上市的药物没有构成对Bayer AG公司446号专利的侵权。Bayer AG公司对Elan公司提出了控告，声称Elan公司既是字面侵权又是等同侵权。地区法庭驳回了Bayer AG公司的控告，认为Elan公司所要销售的硝苯地平药物的比表面积大于446号专利中的比表面积，这点不构成字面侵权；根据禁止反悔原则，驳回了Bayer AG公司所主张的等同侵权[54]。Bayer AG公司对该裁决进行了上诉。

美国联邦巡回法庭维持原判，驳回Bayer AG公司所述的字面侵权和等同侵权。根据法规，一个产品是否造成了字面侵权取决于该产品与某一专利的权利要求书相比，是否具备了权利要求书中的每一个技术要素，或者说权利要求书里的每一个技术要素都可以在被控侵权的产品中找到。假如无法在指控侵权的产品中找到权利要求书里的每一个技术要素，字面侵权就不成立。Elan公司在法庭上出示的证据是该药品中硝苯地平的比表面积是等于或大于5m²/g的。上诉法庭认为因为446号专利权利要求中的硝苯地平的比表面积为1.0～4m²/g，所以Elan公司制造和销售硝苯地平药品不构成字面侵权。

另外，Bayer AG公司认为Elan公司制造和销售硝苯地平药品构成了等同侵权。如上所述，等同侵权是指被控侵权产品或生产工艺中的一个或几个技术要素虽然与权利要求书中的技术要素不一样，但二者只有非实质性的区别；或者说，在专利法看来，被控侵权产品或生产工艺中的一个或几个技术要素等同于权利要求书中的某一个或某几个技术要素。然而，禁止反悔原则可以终止对等同侵权的诉讼，其禁止将审批程序中已经取消或丢弃的内容重新纳入保护。在这个案件中，有很清楚的证据显示，446号专利原始申请的权利要求中硝苯地平的比表面积为0.5～6m²/g。在专利的诉讼期间，专利审查者因为很明显地先有技术而拒绝了Bayer AG公司的权利要求，所以Bayer AG公司修改了其权利要求，限制了硝苯地平的比表面积，使其在1.0～4m²/g之间，声明在这个范围内的硝苯地平有有用的生物价值和缓释特性。Elan公司认为因为Bayer AG公司已明确放弃了对超过4m²/g的硝苯地平晶体的权利要求，Elan公司的硝苯地平的比表面积是等于或大于5m²/g的，所以不构成等同侵权。上诉法庭同意Elan公司的观点，根据Elan公司对446专利诉讼历史的调查，可以得出这样的结论，Bayer AG公司放弃了任何含有比表面积超过4m²/g的硝苯地平药物的权利要求。法庭裁决Elan公司既没有字面侵权也没有等同侵权。结果，Bayer AG公司的诉讼失败，Elan公司获得了FDA的批准。

6. 生产工艺专利和 H/W 法

FDA 没有罗列出已获批准药物配方的生产工艺专利（对制造药物或配方的生产工艺提出权利要求的专利），因此，该类专利并不是简化新药申请需要满足的条件之一，并且不以 H/W 法作为是否侵权的依据。只要专利权所有人获知仿制药制造商用以获专利的生产工艺生产、使用、销售、许诺销售或进口该产品，就可以根据《方法专利修正案》采取行动，即使该药物或其配方是在美国之外制造的[55]。这个同样适用于在已获专利授权的生产工艺中为了制造药物所使用的有用化学中介。虽然生产工艺专利的侵权无法以 H/W 法中的侵权条款作为依据，但是这些条款中所提供的保护却是无价的，特别是对那些为了获得纯商业利益而用已获授权的生产工艺专利制造药品的仿制药制造商。如果是这种情况，专利权所有人可以通过阻止仿制药制造商获得药物成分的方法来阻止仿制药的商业化，而不是通过已获专利的生产工艺。也就是说，如果正确使用《方法专利修正案》中的条款，该法案将是 H/W 法的一个重要补充。如上所述，根据《方法专利修正案》，有两种情况认为不是对生产工艺的侵权：①在生产中，产品有了物质上的变化；②此产品成为另一产品的非本质组成。当然“物质变化”和“非本质”是十分模糊的概念，因此联邦法庭依然讨论着这个广泛的概念以及如何才算构成侵权。

对专利提出质疑的动机

仿制药制造商对已有专利产品提出质疑的动机除了为了避免可能存在侵权的不定因素，还有一个重要原因就是为了在专利有效期结束前获得 FDA 的上市许可。提出质疑可以获得一些好处，举个例子来说，虽然已公布的专利被认为是即时生效的，但是在获授权之后，有时会出现新的证据证明该专利有某个或某些权利要求是无效的，如果仿制药制造商掌握了这些证据，必须在所要求的告知书中告之专利所有者，他已提交了对他们的专利有质疑的简化新药申请。这时，专利权所有人宁可与仿制药制造商协商解决，而不愿冒其某个或某些权利要求会被法庭宣布无效的风险。很明显，如果仿制药制造商希望专利权所有人接受这样的妥协，那么在递交简化新药申请之前就必须全面地调查该专利的有效性。

如果不能与专利权所有人达成共识，且仿制药制造商成功地对专利提出了质疑，那么其公司将作为第一个仿制药申请者，并可能是该创新药物的唯一竞争者。法令规定，作为鼓励“第一个”仿制申请者拥有 180 天的市场专卖权[56]。成功地对专利提出质疑的仿制药制造商，将从仿制药开始商业上市之日起或者从法院判决认定该专利无效、不可实施或不被侵权之日起，有资格拥有 180 天的专卖期[57]。在此期间，其他任何关于该新药的简化新药申请不会被授权。能够获得 180 天的市场专卖期及能作为第一个仿制申请者，对于仿制药制造商来说是十分重要的，因为这可以建立稳固的市场地位并弥补在质疑过程中的花费。

总结

医药产业的发展为提高医药专利及提升美国 H/W 修正案的重要性作出了贡献。随着越来越多的国外制药公司看中了可赢利的美国市场，想在此销售在国外研发的医药产品和配方，这两者将会变得越来越重要。过去，大部分国外中小型制药公司因为 FDA 严格的规章制度而放弃了美国市场，现在人们对低花费药物的需求不断增加，美国市场就变得不可忽视。专利权所有人可获得的权利和市场对相对低价药物的需求这两者之间的平衡将会继续提升 H/W 修正案的重要性。毫无疑问，为了完善这些条款，将会产生更加激烈的讨论。

参 考 文 献

1. 35 U. S. C. § 101 and § 100.
2. 35 U. S. C. § 271 (g).
3. 35 U. S. C. § 154 (a) (2).
4. 35 U. S. C. § 156.
5. 37 C. F. R. § 1. 720.
6. 35 U. S. C. § 156; 37 C. F. R. § 1. 775.
7. 35 U. S. C. § 156 (g) (6) (A).
8. 35 U. S. C. § 156 (c) (3).
9. 80F. 3d 1543, 38 USPQ2d 1347 (Fed. Cir. 1996).
10. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (D) (ii). Other Time Periods Apply to Products Approved Before September 24, 1984. See 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (D).
11. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (D) (ii).
12. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (D) (iii).
13. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (D) (iv).
14. 21 U. S. C. § 355a.
15. 21 C. F. R. 314. 53 and 21 U. S. C. § 355 (b) (1).
16. 21 U. S. C. § 355 (j) (2) (A).
17. 21 U. S. C. § 355 (j) (2) (A) (vii).
18. 21 C. F. R. 314. 53 and 21 U. S. C. § 355 (b) (1).
19. Abbott Labs r. Zenith Labs. Inc., 934 F. Supp 925, 36 USPQ2d 1801 (1995).
20. 35 U. S. C. § 287 (3).
21. 35 U. S. C. § 287 (3) (B) (i).
22. 35 U. S. C. § 287 (4).
23. 35 U. S. C. § 287 (4) (A) (i).
24. 35 U. S. C. § 287 (4) (A) (ii).
25. 35 U. S. C. § 287 (4) (A) (iii).
26. 35 U. S. C. § 287 (4) (C).
27. 35 U. S. C. § 271 (a).
28. 35 U. S. C. § 271 (g).
29. Eli Lilly and Company v. American Cyanamid, 82 F. 3d 1568 (Fed. Cir. 1996).

30. 35 U. S. C. § 154 (a) (1).
31. Consolidated Aluminum Corp. v. Foseco Intl. Ltd., 716 F. Supp 316, 10 USPQ2d 1143 (N. D. Ill. 1988).
32. Hilton Davis Chem. Co. v. Warner-Jenkinson Co., Inc., 62 F. 3d 1512, 35 USPQ2d 1641 (Fed. Cir. 1995) (En Banc), Revd. and Remanded, No. 95—758 (U. S. March 3, 1997).
33. This Test was First Set Forth in Pennwalt Corp. v. Durand-Wayland, Inc., 833 F. 2d 931 (Fed. Cir. 1987).
33a. Festo Corp. v. Shoketsu Kinzoku Kogyo Kabushiki Co., Ltd., 234 F. 3d 558 (Fed. Cir. 2000).
34. EWP Corp. v. Reliance Universal Inc., 755 F. 2d 898, 225 USPQ2d 20 (Fed. Cir. 1985).
35. 35 U. S. C. § 102 (a).
36. 35 U. S. C. § 102 (b).
37. 35 U. S. C. § 102 (f).
38. 35 U. S. C. § 103.
39. Graham v. John Deere Co., 383 U. S. 1 (1966).
40. 35 U. S. C. § 283.
41. 35 U. S. C. § 284.
42. 35 U. S. C. § 284.
43. 35 U. S. C. § 285.
44. 35 U. S. C. § 271 (e) (1).
45. 35 U. S. C. § 271 (e) (2).
46. 21 U. S. C. § 355 (j) (4) (B) (iii).
47. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iii).
48. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iii).
49. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iii) (II).
50. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iii) (I).
51. 35 U. S. C. § 271 (e) (3).
52. Bayer AG r. Elan Pharmaceutical Research Corp., 2000 WL 572705 (Fed. Cir. 2000).
53. 21 U. S. C. § 505 (j) (2) (B) (ii).
54. Bayer AG v. Elan Pharmaceutical Research Corp., 64 F. Supp. 2d 1295 (N. D. Ga. 1999).
55. 35 U. S. C. § 271 (g).
56. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iv).
57. 21 U. S. C. § 355 (j) (5) (B) (iv) and Mylan Pharmaceuticals Inc. v. Shalala, 53 USPQ2d 1449 (DC DC 2000).

（罗大忱 译）

Z

自氧化和抗氧剂

John M. Pezzuto
Eun Jung Park
University of Illinois at Chicago, Chicago, Illinois, U. S. A.

引言

顾名思义，氧气是需氧生物所必需的，但在一定条件下也可以看成是有害的。所谓自氧化（autoxidation）是指在环境温度下，大气中的氧气和有机化合物发生的化学反应。自氧化现象在日常生活中经常可以见到。如水果变色、食用油变质、橡胶老化等都是氧化的结果。在人体内，通过自氧化过程产生活性氧（ROS）的现象也屡见不鲜。只要防御系统起作用，它就是人体生理的一个正常部分，但过量的或未能清理的自由基会导致生物毒性反应，产生细胞、组织或有机体的恶化、变质。

有大量的报告显示，在人体各种疾病状态中都有自由基参与（表 1）。这种病理现象与活性氧产生的自氧化有关，大多数跟年龄有关的疾病，可以通过自由基与生物底物的反应解释。一个明显的例子就是癌症，更具体地说是致癌作用。自由基在致癌反应中通过破坏核酸和产生多种损伤而发挥重要的作用。例如，8-羟基鸟嘌呤、5-羟甲基尿嘧啶和乙二醇胸腺嘧啶都是由于羟基自由基攻击脱氧核糖核酸（DNA）而产生，而这些突变可视为癌症发生的一种原因。另一个与自由基有关的是中风。由于血流中断（即缺少氧）继而大脑再氧合（局部缺血/再灌注）产生损伤，而导致中枢神经系统（CNS）局部缺血而造成大脑损害。看来大多数或全部需氧组织一旦遭受局部缺血/再灌注就会产生损伤。严重性取决于许多因素，其中之一是缺血时间的长短。现在已经累积了相当多的证据，损伤几乎全部发生在再灌注阶段，而损伤是由于氧自由基介导的氧化过程。此外，一些神经疾病，如阿尔茨海默病（俗称老年痴呆），可能与自由基引起的细胞膜脂质过氧化有关。

表 1 由自由基或 ROS 使生物体产生的结构和功能的变化

结构变化	功能变化	疾病
脂质过氧化反应	增加膜渗透性	癌症
蛋白加合物	减弱膜对电信号的反应	脑卒中（俗称中风）
血红素加合物	改变酶活性	阿尔茨海默病
	减弱结合蛋白的亲和力	风湿性关节炎
	改变氧化物质的摄取	白内障

自氧化现象可以通过从生物体系中将氧气或其他氧化物质排除而完全阻止。这种方法一般很难实现，但内部因素的改变，如添加抑制剂，可降低反应速率或延长诱导期，但不可能完全防止自氧化。能够抑制自氧化的物质被称为抑制剂或抗氧化剂。抑制剂通过抑制初始反应的速率而降低反应速率。真正意义上的抗氧化剂是可以抑制增殖步骤的物质，也就是打断自氧化链反应。其他类型的抑制剂，如抗臭氧剂，无生物相关性但在工业中却非常重要（如防护涂层）。抗氧化剂能抑制致癌作用和动脉硬化症已被人们所熟知。例如，维生素和酚类化合物可以作为化学抑制剂。本章将讨论自氧化的作用机制和生物应用以及抗氧化剂。

自氧化

1. 自氧化反应

大多数易于发生自氧化的化合物都是不饱和物质或高度缩聚的高分子化合物，活性氧物质的目标一般是二烯官能键或双键。不饱和脂质的自氧化是反映这一机制很好的模型。氧分子与多不饱和脂肪酸（PUFA）之间的初始反应为 $RH+O_2 \longrightarrow ROOH$，包括双键移动和氧插入。一般由于“自旋壁垒”阻碍基态氧分子直接加和而一步形成有机化合物。对于自氧化，既然直接加合被自旋壁垒阻碍，替代的有：①电子转移（即氧化还原反应），如过渡金属离子；②自由基参与，一个自由基与氧分子反应产生另一个自由基[1]。

自氧化的重要特点是自催化和自由基连锁反应。氧化的速度是开始缓慢，但随着反应的进展而加快。但是，一旦自氧化开始，一直要持续到反应结束或催化因子耗尽。总之，不饱和脂质要经过 3 个反应阶段：引发、增长和终止。在自氧化反应中活性氧的参与可以归纳为以下反应步骤。

链引发：$X\cdot + RH \longrightarrow R\cdot + XH$

链增长：$R\cdot + O_2 \longrightarrow RO_2\cdot$

$RO_2\cdot + RH \longrightarrow ROOH + R\cdot$

链终止：$RO_2\cdot + RO_2\cdot \longrightarrow$ 稳定产物

$RO_2\cdot + R\cdot \longrightarrow$ 稳定产物

$R\cdot + R\cdot \longrightarrow$ 稳定产物

链引发也许是最难进行界定的过程。这是因为自由基的浓度很低，可能不止一个反应过程，因为有大量的不同自由基能够脱氢从 RH 到 R·。例如，X·可能是过渡金属离子，也可能是由于光解或高能辐射形成的自由基，也可以是氢过氧化物的分解（如 RO·），或是由于外在引发剂的作用而形成的自由基。两步链增长反应是连锁反应过程的基础。增长反应一般被认为是一种非常快的反应，几乎不需要活化自由能。这一阶段的主要结果是 R·浓度远小

于 $RO_2\cdot$。跟引发过程一样，终止反应也可以分为完全的有机自由基参与，和金属离子参与的反应。终止过程包括 R· 和 $RO_2\cdot$，以下生物分子反应

$$RO_2\cdot + RO_2\cdot \longrightarrow 惰性产物$$

最受瞩目，因为这可能是在生理条件下最重要的终止反应。

不饱和脂肪的自氧化受到多种因素的影响，没有一种可以认为是完全的易氧化物或抗氧化物。自氧化速度随着自氧化底物的反应活性、反应物的浓度（活性位点数和氧气浓度）、物理因素（例如，气温上升或辐射）的变化而增大，特别是随着引发反应速率的增加而增加[1]。链反应速率的增加，主要受增加自由基在自氧化系统中的作用的因素影响，如紫外线、X 射线、电离辐射。在各种反应物系统中，如脂肪、油类及生物薄膜、重金属及其衍生物都是重要的自氧化反应链引发物。反应速率能被各种因素抑制，如活性位点的减少、氧分压的降低及反应温度的下降。最重要的是，引发速率的减小（即自由基链引发能力）。能够积极抑制自由基浓度的物质称为抗氧化剂。其他物质也能非常有效地抑制自氧化，尤其是那些能消除自由基前体的物质（如硫化合物，能降低脂肪过氧物）[2]。能使臭氧（抗臭氧剂）或单态氧失活而防止辐射的物质，或重金属（金属清除剂），也充当脂肪自氧化抑制剂。

2. 脂质过氧化反应

脂质膜氧化损伤（如生物系统中的脂质过氧化反应）已经研究多年。脂质过氧化是由于氧化引起的主要后果或是组织损伤的结果，能够加剧组织伤害，这种损伤主要是由于脂质过氧化产物的潜在细胞和基因毒性。具双键的膜脂质很容易氧化。脂质过氧化可以降低膜的流动性，从而导致整个膜疏水空间刚性增加，降低渗透性和渗透压脆性，改变一些膜结合酶以及转运系统的活性[3]。

膜脂质的过氧化能够改变基本膜蛋白如 Na^+/K^+-ATP 酶的活性，因此可以改变离子泵的速率[4]。两个很典型的脂质过氧化产物，丙二醛和 4-羟基壬醛，已经显示出与关键生物分子的反应，在某些病理状态发展中起到重要的作用。微粒体的脂质过氧化产物形式主要有 4-羟基-2-壬醛和少量的 4-羟基-2-辛醛、4-羟基-2-癸醛以及 4-羟基-2-十一碳醛。α，β-不饱和醛如 4-羟基壬醛，为反应活性很高的亲电剂，很容易与硫醇在 CH═CH 发生 Michael 加成反应[1,5]。脂质过氧化物的乙醛加合物能够诱导肝实质细胞的谷胱甘肽损耗，于是相应地产生肝功能异常[6,7]。自由血红蛋白在黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶存在下，也能促进正常细胞膜中不饱和脂肪酸和花生四烯酸的过氧化。此外，血红蛋白或红细胞溶解产物能够加快鼠脑匀浆物过氧化。这种血红蛋白引导的过氧化能够被铁螯合物（如去铁敏）阻滞，表明是铁从亚铁血红素中释放引起的[8]。

过氧化物在细胞中发挥生理作用，但是也能介导导致心脏病和癌症的过程[9~11]。脂肪酸过氧化反应也可能与致癌物或药物的自由基介导代谢活性有关，从而导致癌发生或细胞毒性。脂质过氧化引起的膜功能改变，包括线粒体中氧化磷酸化脱偶、肝内质网功能改变和磷脂膜离子渗透性变化。红细胞膜经过辐射催化的脂质过氧化作用可以增加对 Na^+、K^+、Ca^{2+} 的渗透性。总之，过氧化最终导致膜破坏，如前所述的，经辐射处理的溶酶体的溶菌酶释放，经放射处理的红细胞溶血，以及由于肝膜损伤而导致的各种酶的释放。

自由基和防御系统

1. 自由基和防御系统

广义的自由基是指含未成对电子的分子或离子（表 2）。虽然大多数自由基具反应活性并经过二聚反应或其他反应，不成对电子变成相对稳定的成对自由基，如硝基氧自由基（$R_2NO\cdot$）。生物系统自由基的一个重要来源是氧分子。这一对高级机体很重要的活性物质，一旦过量将是十分危险的。

表 2 由细胞形成的主要活性氧中间体[15]

ROS	功能
超氧离子 $O_2\cdot^-$	由 O_2 失去一个电子的产物，由噬菌细胞产生；自氧化中产生；由氧化酶产生（亚铁血红素蛋白）
过氧化氢 H_2O_2	由 O_2 失去二个电子的产物；来自通过 O_2 直接或歧化产生的 $O_2\cdot^-$；在亚铁血红素蛋白存在的情况下 $O_2\cdot^-$ 和 H_2O_2 的放大反应
羟基 HO·	由 O_2 通过 Fenton 反应失去三个电子的产物；过渡金属（铁，铜）催化的 Haber-Weiss 反应；由 $O_2\cdot^-$ 和 NO· 的反应通过过亚硝酸盐的分解产生
一氧化氮 NO·	在氧依赖反应中在 NO 合酶的作用下由精氨酸产生；在无氧条件下，在 Fe^{2+} 介导的非酶系统作用下由组织 NO_2^- 产生

超氧离子（$O_2\cdot^-$）和过氧化氢（H_2O_2）是哺乳类动物细胞在氧的生物还原过程中产生的正常代谢物。生物系统中自由基反应的发生通常与线粒体细胞电子转移链和一些酶活性有关。在专门的生理反应过程中能进一步地产生自由基，如内皮非炎症细胞释放 $O_2\cdot^-$ 和 H_2O_2，可以作为细胞信号促进生长反应。此外，环境因素以及宾主共栖生物的代谢也是自由基的主要来源，虽然其对细胞的氧化还原状态的实际贡献还很难评估。

虽然只有中等的化学反应活性，$O_2\cdot^-$ 和 H_2O_2 能够通过各种氧化还原反应促使反应活性更强的成分的产生。$O_2\cdot^-$ 和 H_2O_2 与适当的金属复合反应可以产生 HO· 已经是公认的事实。Fenton 型反应需要 $O_2\cdot^-$ 和 H_2O_2 作为 HO· 前体。这一过程通过中间体催化，如过渡金属螯合物，而产生 HO·[12]。HO· 可能与线粒体损伤的某些方面有关，如线粒体 DNA 的氧化损伤。HO· 产生的必要条件

就是满足在线粒体中的电子转移，线粒体是通过 H_2O_2 分裂得到 HO· 的主要来源。

Haber-Weiss 反应：$Fe^{3+} + O_2^{\cdot -} \longrightarrow Fe^{2+} + {}^1O_2$

Fenton 反应：$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + HO\cdot + HO^-$

另一种类型的单电子转移反应能够形成氧自由基，此过程涉及由于分子氧的存在使碳中心自由基（R·）消亡。这个反应可以形成过氧化物自由基（R—OO·），与母体R·种类有很大的不同。由于这些成分对不饱和脂肪酸的反应活性，反应引发后有脂质过氧化的链增长步骤。链增长步骤发生在膜疏水部位，连锁反应的长度由反应物质、PUFA 和氧气、链断裂抗氧化剂如 α-生育酚、类叶红素和辅酶 Q 决定。

在细胞中，抵御这些反应成分的第一道防线是酶的抗氧化系统，这些酶能够清除自由基或氧化剂，如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶。一般来说需氧菌不额外表达这种抗氧化防御，尽管如果有足够时间的话这些系统往往是由高浓度的 O_2 诱导激活。此外，在外界氧气条件下，内源性抗氧化剂不能阻止 ROS 造成的损伤。因此，动物依靠第二道防线的修补系统，它在消除由于 ROS 造成的 DNA 损伤是最重要的。辅助这种系统的是可诱导蛋白如血红素加氧酶-1。血红素加氧酶在这个过程中能够移去血红素氧化强化剂亚铁血红素，并产生抗氧化剂胆红素[13]。饮食中的抗氧化剂还能提供附加保护。其中一些的生理作用已明确（如维生素和抗坏血酸盐），而其他一些（如类黄酮和类叶红素）目前还不确定。尽管如此，饮食抗氧化剂在延迟/阻止某些人类疾病方面似乎是十分重要的，尤其是心血管疾病及某些癌症[14]。

2. 抗氧化剂

天然抗氧化剂如非酶食物成分的作用还不是很确定，但它能清除有机和无机自由基。这些成分存在于很多植物中，一般在其分子结构中都有芳香环结构。有各种环结构，通常与一个或多个羟基相连而提供活性氢，并作为自由基形成的基础。这些抗氧化剂可分为水溶性或脂溶性的，主要取决于它们是在细胞膜中的水相还是在脂质区域起作用。亲水抗氧化剂包括抗坏血酸和尿酸、辅酶 Q、类维生素 A、类叶红素、类黄酮和生育酚为典型的脂溶性抗氧化剂（图 1）。血浆蛋白质、谷胱甘肽和尿酸是人体内源性的抗氧化剂，而抗坏血酸、类叶红素、类维生素 A、类黄酮和生育酚是一些饮食抗氧化剂。这些化合物具有清除和熄灭各种自由基和 ROS 的潜力。一些自由基清除剂不可以重复使用，而一系列通过酶系干涉的和一些非酶的抗氧化系统却是可以再利用的。

考虑到安全及其他实际原因，一些用作药物的抗氧化剂活性物质只限于少数酚类。类黄酮作为天然酚类化合物的一大类在植物王国中广泛地分布（图 2）。这些芳香化合物以芳香氨基酸、苯基丙氨酸、酪氨酸、乙酸盐单位为原料在植物中形成。苯基丙氨酸和酪氨酸转变为苯乙烯酸和 *p*-香豆酸，并与乙酸盐单位反应形成类黄酮的肉桂结构[15]。类黄酮作为植物、花、叶、水果色素已被人们所熟知。如在鲜花、水果、树叶中作为蓝色、猩红、橘红的亮

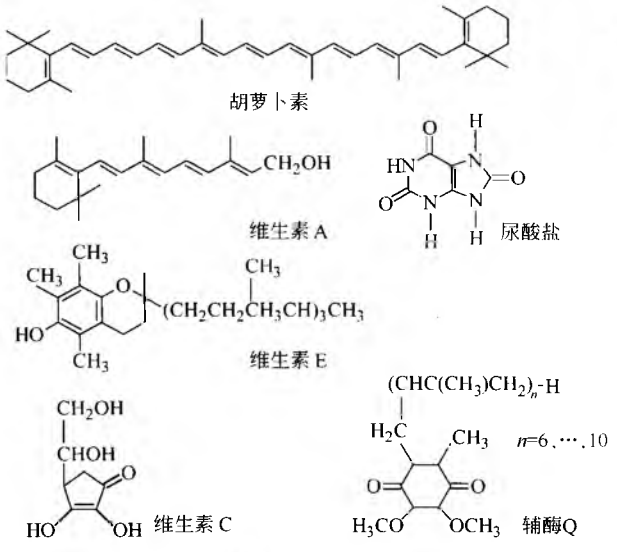


图 1 天然抗氧化剂

色阴影。它们存在于各种水果、蔬菜、坚果、种子、谷物、香料、药材中，以及一些饮料诸如茶叶、可可饮料、酒中。从饮食中摄取的类黄酮量是很大的。在英国和美国的每天饮食中可能含有多达 1g 的混合类黄酮。它们的饮食摄入远超过维生素 E（一种单环抗氧化剂）和 β-胡萝卜素[15]。

类黄酮为强效的金属螯合剂和自由基清除剂，它们还是很强的链破坏抗氧化剂[16]。此外，类黄酮具有稳定维生素 C 的活性以及维持由维生素 C 的决定抗氧化剂的活性。类黄酮还可以增加维生素 C 的吸收。另外，类黄酮还可以改变一系列酶系统的活性，包括蛋白激酶 C、蛋白酪氨酸激酶和各种其他激酶（醛醣还原酶、绿过氧物酶、NADPH 氧化酶、黄嘌呤氧化酶、磷脂酶、逆转录酶、鸟氨酸脱羧酶、脂质加氧酶、环氧化酶等）。其中一些酶系统在免疫功能、癌发生、细胞转化以及肿瘤细胞成长和转移中至关重要。类黄酮影响的生理和病理过程纷繁众多，包括分泌、有丝分裂的发生、血小板聚集和内皮表面黏附、细胞活动及恶性细胞增殖、癌症转移和各种哺乳动物细胞类型的黏附因子的功能/表达。类黄酮和抗氧化功能和酶修饰作用可以解释其许多药理学活性[15]。

栎精和其他类黄酮物质是细胞产生 $O_2^{\cdot -}$ 的有效抑制剂。栎精是一种人嗜中性粒细胞脱粒和 $O_2^{\cdot -}$ 产生的强效抑制剂，也能在佛波酯存在的情况下抑制嗜中性粒蛋白的磷酸化[17]。栎精还可以抑制一些生物系统中的脂质过氧化，如线粒体、微粒体、叶绿体和红细胞。水飞蓟素是存在于水飞蓟（欧洲奶蓟）中的一种 3-OH 黄酮，能够保护鼠肝线粒体和微粒体不被抗坏血酸-Fe^{2+} 和 NADPH-Fe^{3+}-ADP 系统诱导的脂质过氧化[18]。大豆异黄酮具有抗氧化潜力并能防止羊、老鼠、兔子红细胞溶血[15]。栎精和水飞蓟宾[19]据说能够在缺血/再灌注大鼠中通过降低黄嘌呤脱氢酶/加氧酶比率而产生保护作用。在缺血/再灌注之后在组织氧化损伤中涉及的酶（黄嘌呤氧化酶）是 ROS 产生的来源，其通过脱氢酶形成。栎精和水飞蓟宾的保护作用主要是对脱氢酶的抑制。

Z

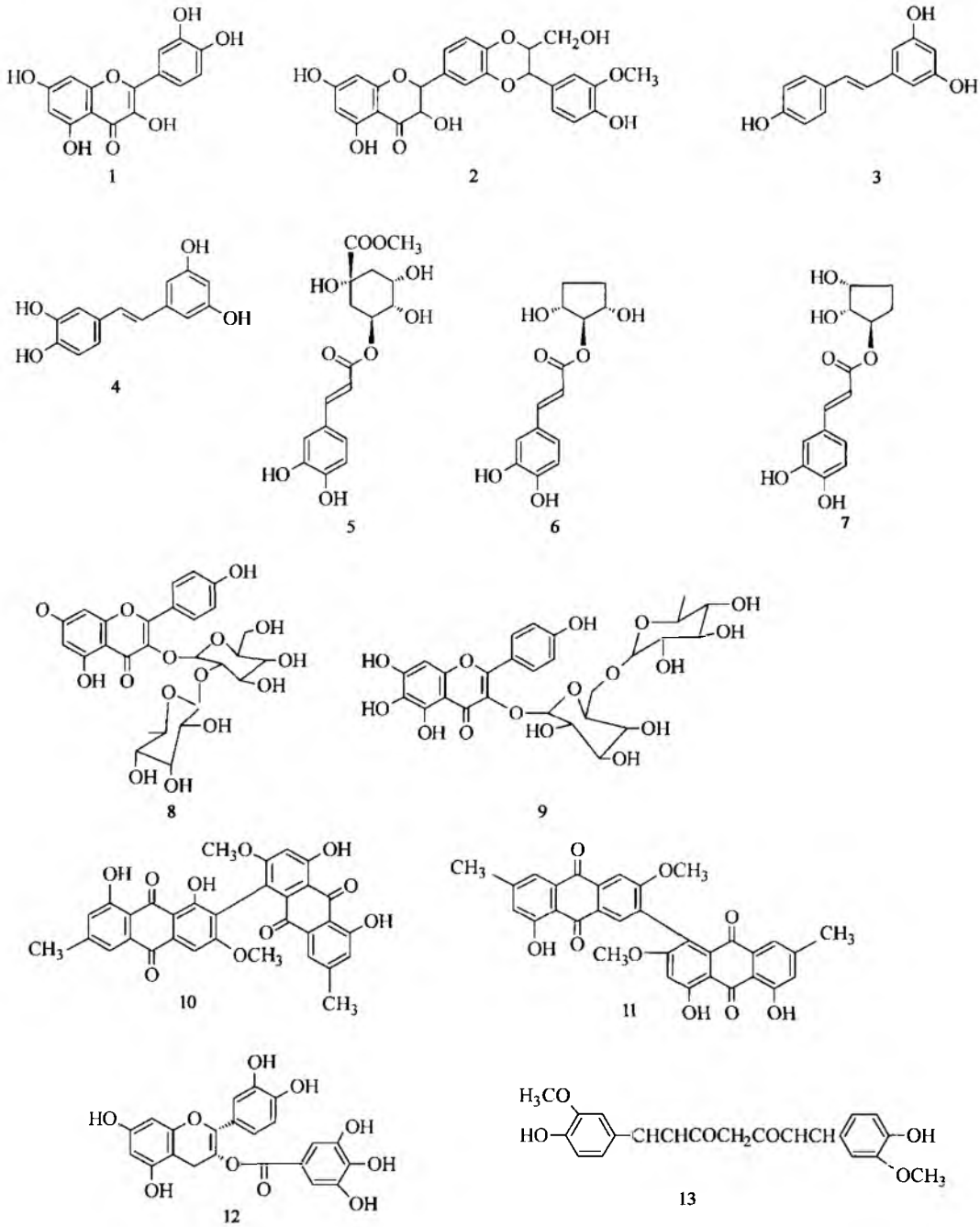


图 2 来自植物的酚类抗氧化剂。1. 栎精；2. 水飞蓟素；3. 白藜芦醇；4. piceatanmol；5. 绿原酸甲酯[16,17]；6. 1-(3′,4′-肉桂酰)-环戊二烯-2，5-二醇[16]；7. 1-(3′,4′-肉桂酰)-环戊二烯-2，3-二醇[16]；8. 获菲醇-3-*O*-新橙皮糖酐；9. 5,6,7,4′-四羟基黄酮醇-3-*O*-芸香苷[20]；10. floribundones I；11. floribundones II；12. (－)-表儿茶酸-3-*O*-没食子酸；13. 姜黄素

促氧化剂

促氧化剂是一种能够诱导氧化的物质，定义为将促氧-抗氧平衡向氧化活性转移的物质。在生物系统中被促氧化剂诱导的氧化本身就可以增加生物活性自由基的产生，使抗氧化防御的能力降低和（或）增加氧化损伤。氧自由基和抗氧化剂的良好平衡取决于促氧化剂的浓度、氧分压和其他抗氧化剂之间的相互作用。

1. 维生素

1.1 类胡萝卜素

类胡萝卜素是一种研究透彻、分布很广的色素，各种

水果和蔬菜鲜艳的颜色都是由它们产生。众所周知至少有600多种不同的类胡萝卜素，如β-胡萝卜素，它被广泛用来作为维生素A的前体、食品着色剂和食品添加剂[20]。这些化合物可以作为突触间隙信息传导的加强剂和免疫反应的刺激物以及电位兴奋的淬火剂，如单重态氧和三重态增感剂[21~23]。β-胡萝卜素和其他类叶红素抗氧化剂的抗氧化作用最近引起了广泛地关注。类叶红素被认为可以清除自由基，β-胡萝卜素和其他类叶红素已经在体内外观测到了抗氧化活性[24,25]。然而，类叶红素并没有与一般链破坏抗氧化剂相关的结构特征。由于结构中的共轭双键使其具有氧化强化剂特征，使它们能够很容易受到自由基的攻击（图3）。

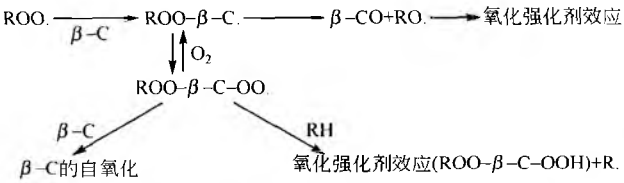


图3 推测的β-胡萝卜素氧化强化剂活性的反应途径。β-C，β-胡萝卜素；ROO·，过氧化氢自由基；ROO-β-C，β-胡萝卜素自由基；ROO-β-C-OO.β-胡萝卜素过氧化氢自由基；β-CO，β-胡萝卜素环氧化物；RO·，烷氧自由基

类胡萝卜素无论是产生有害的或有益的细胞反应，都取决于它们的抗氧化剂或促氧化物的特性，这些特征由细胞内外环境的各种不同的因素所决定，如氧压力和β-胡萝卜素的浓度。当类胡萝卜素在正常细胞中起不适当的促氧化作用时，产生的活性氧代谢物可以诱发类脂、蛋白质和DNA的损伤。这种作用能改变正常的调控功能并且能破坏细胞的完整性或引发瘤性转化。一些人工实验显示类胡萝卜素补充物在防治慢性病方面的作用很小或甚至没有价值，如心血管疾病和癌症，而且实际上很有可能会增加吸烟者肺癌的发生率[20]。相反，当类胡萝卜素作为促氧化剂作用于已经转化了的细胞时，它们可以诱导有益的效果，如抑制恶性损伤的生长和发展和（或）产生肿瘤细胞毒作用[26]。

虽然有报告称类胡萝卜素可以通过其抗氧化活性阻止正常细胞转化，但是有很多的证据表明它们也可能会阻断通过促氧化作用已转化的细胞的生长。类胡萝卜素的自氧化在肿瘤细胞比正常细胞程度高。因此，在癌细胞中，我们可以假定类胡萝卜素的促氧化性质强于抗氧化性质[27]。除此之外，一些研究显示类胡萝卜素在癌细胞中有选择性地充当促氧化因子，通过增加热休克蛋白质表达[28]和增强脂质过氧化反应产物的形成，进一步减少氧-保护酶的水平并且刺激肿瘤坏死α-因子的表达。

1.2 抗坏血酸盐

抗坏血酸盐属于必需维生素，必须从外界摄取。因为它的抗氧化特性而作为一种饮食补充剂。许多流行病学研究表明足够量的维生素能够抑制心脏疾病和癌症。但是有关最佳摄取量并不是十分清楚。有足够的证据表明抗坏血酸盐可以作为氧化剂，主要取决于分子所处的环境。它能够诱导人体内骨髓白血球的细胞死亡、核分裂和核酸内切酶DNA裂解[27]。最近，有报道对健康志愿者给予6天500mg/d的维生素C，表明有显著的促氧化剂的作用。这可以通过氧自由基在淋巴细胞中介导DNA损伤所产生的典型标记物，如8-氧化鸟嘌呤和8-氧化腺嘌呤，来佐证[29]。

小鼠补充维生素C可以显著地影响CYP2E1酶催化的药物代谢，以及和肝微粒体中的超氧阴离子过度衍生相关。被维生素C诱导产生的超氧阴离子可以合理地解释外周淋巴细胞的DNA损伤[30]。抗坏血酸盐在大脑匀浆组织中是还原剂，但是在脑切片中却具有氧化活性。一个在脑皮质切片中抗坏血酸盐的氧化活性的解释是，细胞外的抗坏血酸盐被氧化成脱氢抗坏血酸盐，并通过葡萄糖载体迅速摄入细胞，之后细胞液中的脱氢抗坏血酸盐被还原为抗坏血酸盐，而在此还原过程中细胞组成部分被氧化（图4）[31]。

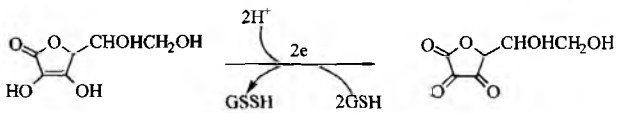


图4 维生素C的氧化和还原形式

1.3 生育酚

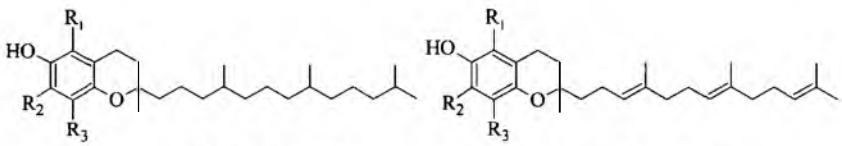
维生素E是组织中主要的外源性亲脂性抗氧化物质，是8个重要天然分子的集合性的名字，即四个生育酚和四个三烯甘油酯，定性地显示出α-生育酚的生物活性。α-生育酚被认为是存在于血浆、循环脂蛋白[32]和组织中最重要的脂溶性抗氧化剂，尽管γ-生育酚和三烯甘油酯在这些组织中的浓度是相当低的（图5）。

一个关于α-生育酚的琥珀酸盐和乙酸盐的抗癌活性调查发现，其琥珀酸盐形式可以抑制口腔癌细胞的生长，同时刺激正常角化细胞的生长和分化[33]。乙酸盐形式可以促进癌症细胞中胸苷酸的合成以及p53突变基因的表达，所以，它增加了细胞调控因子P34cdc的增殖与表达。用维生素E治疗可以减少口腔伤口愈合所需的时间，并可增加内皮细胞的体外生长[34]。血小板黏附也被抑制，这也使得血栓发生的可能性降低。这些活动的机制似乎归因于前列腺素的合成途径在环氧化酶活化这一环节上被阻断，同样这个机制也被用来支持牙龈疾病时使用维生素E[27]。

当采用适当的条件来启动氧化反应时，维生素E的抗氧化性可转变为促氧化性。α-生育酚在脂质过氧化中的强氧化作用只有在样品中完全没有抗坏血酸盐存在时，或抗坏血酸盐的最终浓度是生理低浓度时才表现出来。在适度的氧化条件下，向处于生理浓度附近的样品中加入抗坏血酸盐时，会恢复α-生育酚的抗氧化活性[35]。

1.4 类维生素A

类维生素A，作为维生素A的代谢和合成衍生物，具有有效的抗氧化功能，并且可以抑制脂质双分子层中的不饱和脂肪酸的过氧化。例如，一些类维生素A在大鼠的肝



	R_1	R_2	R_3		R_1	R_2	R_3
α-维生素 E	CH_3	CH_3	CH_3	α-生育三烯酸	CH_3	CH_3	CH_3
β-维生素 E	CH_3	H	CH_3	β-生育三烯酸	CH_3	H	CH_3
δ-维生素 E	H	CH_3	CH_3	δ-生育三烯酸	H	CH_3	CH_3
γ-维生素 E	H	H	CH_3	γ-生育三烯酸	H	H	CH_3
母育酚	H	H	H	生育三烯酸	H	H	H

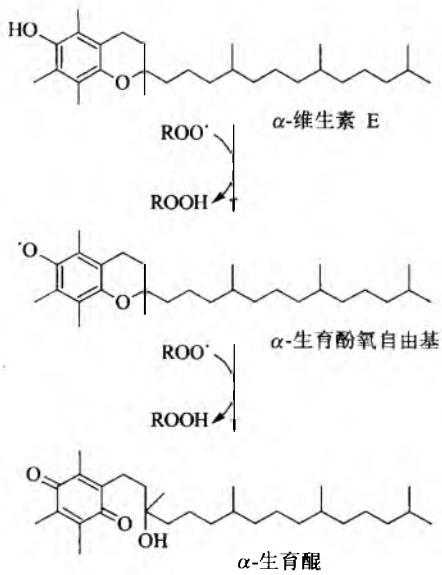


图 5 维生素 E 的化学结构和 α-维生素 E 的代谢途径

微粒体和脑细胞线粒体中可以抑制抗坏血酸盐依赖性的、离子催化的脂质过氧化作用。维生素 A 的棕榈酸盐在大鼠心脏和脑组织中表现出抗氧化作用[36]。但是类维生素 A 却能在十二烷硫酸钠胶束中增加由 2，2′-azobis（2-粉溶素丙烷）引发的针对亚油酸的自然氧化过程的速率。这个观察结果也许可以解释类维生素 A 在此体系中的促氧化作用[37]。除此之外，类维生素 A 的可能有害作用（如促进肿瘤生长），及增加低密度脂蛋白和甘油三酸酯，以及激化先前存在的自体免疫疾病也都曾报道过。

2. 酚类

酚类物质是与抑制动脉粥样硬化和癌症相关的主要的非必需饮食成分之一。其生物活性也许与抗氧化行为有关，这因为它们具有螯合金属、抑制脂加氧酶以及清除自由基的能力。但是当酚类物质以一种可维持或增加它们催化活性的方式来螯合金属时，就会表现出促氧化能力（图 6）。同样，多酚还原金属，也因此增加了它们从过氧化物中形成自由基的能力。

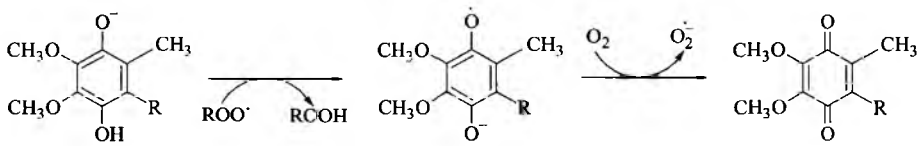


图 6 辅酶 Q 的抗氧化和氧化强化剂功能

2.1 类黄酮

类黄酮，尤其是具有儿茶酚或 phyrogallol 基团的黄酮，明显易于发生自氧化反应[38]。最近 Morgan 等的文章[39]证明了从大豆和其他豆科植物中提取的酚类化合物有促氧化物和抗氧化物性质。基本的化合物（酚酸）和类黄酮能还原三价铁为亚铁离子，并能螯合并改变离子的催化活性。大部分的酚类化合物经试验能抑制亚麻酸胶束的氧化和亚铁离子催化的谷酰胺合酶的氧化反应，推测这是由于自由基清除作用和通过螯合作用除去了离子的催化部位。尽管类黄酮能抑制某些系统的氧化，但它们不能避免所有形式的氧化损伤。酚类化合物能螯合铁离子，但此金属离子仍具有催化活性，并能氧化脱氧核糖和 DNA。在鼠尾草酚、鼠尾草酸、槲皮素、卢丁和毛地黄黄酮中还发现了酚类化合物的促氧化剂活性[39]。

另外还发现 pH 是决定酚类化合物氧化作用的重要因素。一般而言，pH 的减小能增强离子的还原活性，减少其与酚类化合物的螯合，抑制其催化活性。pH 增加可增强对脱氧核糖和 DNA 的氧化作用。对脂质氧化作用的抑制也受 pH 的影响，γ-二羟基苯甲酸在 pH 为 5.8 时有抗氧化性，在 pH 为 7.4 时有促氧化性。在 pH 为 7.4 时，二苯基乙二醇酸有抗氧化性，7 位葡萄糖芹菜苷有促氧化性，但两者在 pH 为 5.8 时都没有脂质氧化性。这些结论说明生物组织的 pH 也能影响酚类化合物的抗氧化性/促氧化性活性[40]。

多酚的细胞毒性机制可能与其促氧化剂的性质有关[41]。类黄酮的自氧化发生在水性介质中，在过渡金属存在下可能形成高活性的 HO · 自由基。此外，多酚和类黄酮也可作为过氧化酶和金属酶的底物，产生醌或甲基醌类的过氧化物和（或）烷基化产物。多酚细胞毒性的促氧化特征可以通过没食子酸诱导细胞凋亡作用过程中活性氧的形成，和由于铜离子的非毒性浓度使得没食子酸和咖啡酸诱导细胞凋亡作用的加强来证明[42]。

儿茶酚，如（－）-表儿茶酚和（－）-表没食子儿茶精大量存在于绿茶中，具有对于 Cu^{2+} 诱导的 LDL 氧化的抗氧化和促氧化的性质。在引发阶段，LDL 氧化能够被儿茶酚所抑制。与此相反，在 LDL 氧化的增长期儿茶酚却可以加速氧化的发生。根据氧化还原状况，它们可以形成活性氧化产物如半醌和醌，并能够激发氧化反应[42]。

槲皮苷，一种高度研究的类黄酮类物质，在细胞中能够通过①清除 $O_2^{\cdot -}$；②阻止脂质过氧化；③与过氧化氢或脂质过氧化自由基反应；④抑制 HO · 的形成；⑤螯合铁离子来清除自由基。槲皮苷的生物效应来自于它的抗氧化性质。最近，有研究表明，槲皮苷既可以作为抗氧化剂也可以作为促氧化剂，主要取决于其浓度和自由基来源和它们在细胞中的位置。同时，槲皮苷也具有剂量依赖的细胞毒性。虽然细胞毒性的确切机制尚未完全解释清楚，可能与 $O_2^{\cdot -}$ 的形成及其代谢物 *o*-苯醌有关（图 7）。一些种类的毒性以为人们所熟知，能够与细胞组成部分以巯基或其他具有重要基团通过共价键不可逆结合[43]。

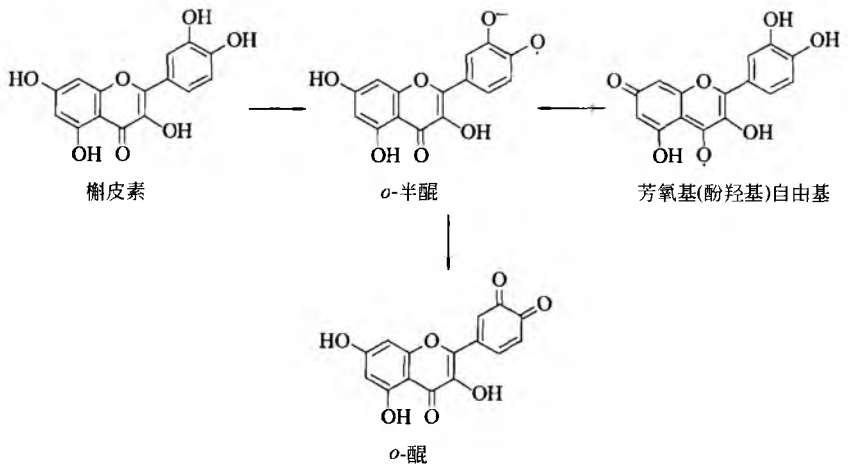


图 7 栎精的氧化还原活性示意图

2.2 儿茶酚雌激素

有很多体内外研究都已经表明雌激素具有抗氧化性质[44~46]。例如，雌激素能够抑制 LDL 氧化、脂质的过氧化反应和胆固醇的氧化。对切除卵巢的猪使用 17β-雌激素可以抑制 LDL 氧化。这种结果同样见于绝经后的妇女。雌激素的抗氧化活性能够用来解释相对于男子来说，对绝经前的女人或绝经后的女人使用雌激素有较低的心脏疾病发生率[47]。

相反，已在其他模型体系中确定了雌激素的促氧化剂作用。17β-雌二醇或其他雌激素引发单链断裂，或服用这些激素的叙利亚地鼠 DNA 鸟嘌呤的 8-羟化。此外，还有雌激素或有过氧化酶存在的乙烯雌酚的代谢作用，以及 DNA 引发的鸟嘌呤 8-羟基化作用。除了氧化剂诱导的 DNA 损伤，雌激素还有产生脂质过氧化作用和蛋白质氨基酸残基的氧自由基介导的氧化作用，从而产生含有羰基的部分[48]。

雌激素显示促氧化还是抗氧化的活性取决于它的代谢物性质和浓度（图 8）。激素及其代谢产物的药理学浓度明显具有抗氧化特性。这种抑制机制可能是基于雌激素苯酚部分的自由基清除行为。相反，2-或 4-羟基雌二醇增加了 LDL 的氧化作用，这是与缺少雌激素时的对照值相比，通过减少脂质过氧化作用的滞后时间从而减少 40%～50%。儿茶酚雌激素的儿茶酚结构对促氧化活性是必要的，因为激素原形和其他雌激素代谢物不具有任何可测的氧化活性。因此，雌激素的体内促氧化活性可能是在特殊的器官或种属内转化为儿茶酚代谢物。儿茶酚雌激素的促氧化活性机制可能基于金属离子的还原作用，尤其是经过儿茶酚代谢作用由 Cu^{2+} 到 Cu^{+}。Cu^{+} 氧化 LDL 的脂质体，使之产生羟基自由基，其进一步促发类脂的氧化[49]。

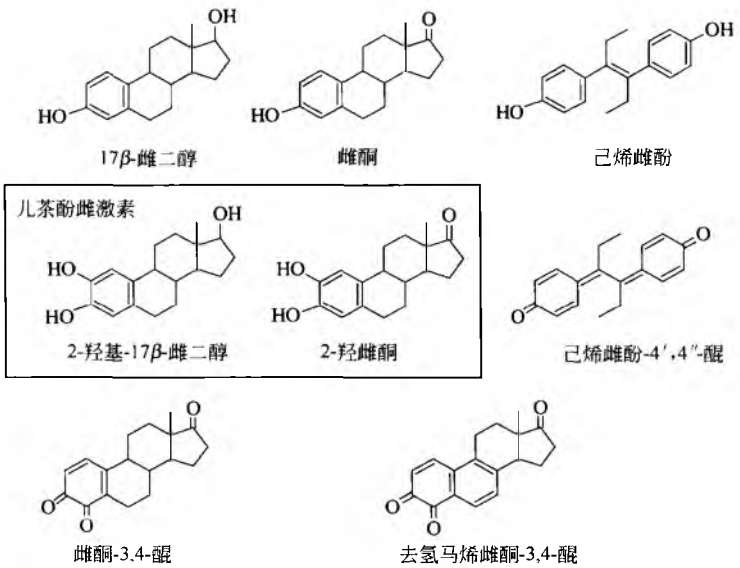


图 8 雌激素的代谢产物

与自由基有关的疾病

1. 局部缺血/再灌注损伤

局部缺血/再灌注（I/R）损伤综合征近年来作为心脏、脑、肠、肾及其他器官的特征性疾病。其症状包括在某一组织的再灌注期组织损伤异常，而在局部缺血期仅有持续且相对较小的组织损伤。现已明确再灌注损伤是通过氧化剂机制联合氧自由基诱导的。ROS 既与局部缺血短时间内观察到的再灌注心肌机能障碍有关，又与局部缺血较长时间后再灌注时造成的心肌细胞不可逆损伤有关[50]。

给试验动物注射高浓度儿茶酚胺、肾上腺素或去甲肾上腺素可造成肌蜂窝织炎、肌纤维破裂、质膜起泡以及心肌坏死。据说这些心脏毒素的效应不是由儿茶酚胺本身造成的，而是由儿茶酚胺自氧化过程中一系列复杂反应产生的 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 造成的。据观察，缺乏维生素 E 的大鼠对去甲肾上腺素引起的心脏毒素效应更加敏感，而当在其饮食中补充维生素 E 后，由这种合成的儿茶酚胺诱导的心肌损伤将会减小。然而，研究结果表明，抗氧化剂的这种抑制儿茶酚胺诱导心肌坏死的保护作用必须谨慎加以解释，因为在这个模型中已观察到嗜中型粒细胞的累积，而它是氧自由基的主要来源[51]。

卡维地洛，一种有效的抗氧化剂，能抑制线粒体膜的脂过氧化物。它通过保护线粒体的功能而产生对心脏的保护活性[52]。

通过药物及抗氧化物酶清除羟基自由基（或减少它们的生成）的作用可获得一种相似的心脏保护作用，但这种有益作用不能通过减少超氧负离子生成的药物获得。一些从植物中提取的化合物已显示了抗局部缺血损伤的活性：葡萄中的原花青素[53]、红葡萄酒[54]和人参提取物[55]中的白藜芦醇。

2. 癌症-致癌作用

肿瘤的形成可能是很慢的，通常需要 10 年或更长的时间。致癌作用可以视作一个多阶段的、微观演化的过程，这一点很重要。众所周知，肿瘤可以从一个不正常的细胞发展而来，实验研究显示致癌过程可分为三个主要阶段：起始、促进和发展。起始是一个可遗传的畸变细胞，如果促进和发展阶段随后继续的话，这样的一个起始细胞可转化为恶性肿瘤。起始阶段是不可逆的且可以导致 DNA 的损伤。促进阶段受很多不改变 DNA 序列的因素的影响；它包括起始细胞的选择和克隆扩增。这个过程是部分可逆的且可以在很大程度上解释为何致癌过程存在漫长的潜伏期。肿瘤形成的最后阶段是从良性肿瘤到恶性肿瘤的过程。这个过程生长失去控制，宿主防御机制失去作用，且可以发生转移。

一定的引发剂，如放射线或化学致癌物质，能诱发多种自由基的产生从而导致 DNA 基因序列的改变。此外，免

疫系统的细胞，如嗜中性粒细胞和巨噬细胞，产生的 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 就与诱导实验性肿瘤有关。已知氧自由基和甲基自由基可损伤 DNA。有时，这种自由基还可能引起临近 DNA 细胞中三价铁和二价铜的催化反应。自由基介导的 DNA 损伤会给组织造成严重后果，除非损伤被修复。尽管氧自由基的作用能导致 DNA 损伤，但它们还能直接影响 DNA 修复器官的蛋白质成分。不可修复的 DNA 损伤可遗传导致突变。

氧自由基和相关的自由基还有可能参与肿瘤促进阶段。肿瘤助长剂大戟二萜醇酯类不仅能诱导细胞基因的改变从而导致一些肿瘤细胞表性特征，而且它们还能刺激炎症粒细胞释放超氧化物。巴豆油酯刺激后吞噬细胞释放的超氧化物，与其肿瘤促进活性成正比。低水平的 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2，以及“呼吸器官突然发作”的产物都可促进纤维原细胞的增长，成纤维细胞还可能隐含着一个致癌基因或一个突变的原癌基因。此外，当在培养基中加入外源性物质时，低水平的超氧化物还能刺激各种类型细胞的生长或生长应答。这些种类的细胞尤其能刺激蛋白激酶 C 的活性和易位，并表达与早期生长相关的基因，如原癌基因 *c-fos* 和 *c-myc*。超氧化物和（或）过氧化氢可能具有促有丝分裂的刺激物的功能，并与天然生长因子的生物学过程相同。因此，包括释放超氧化物或过氧化氢的生长应答信号的发出，可能会通过信号传导路径化合物的氧化修饰来介导。血清蛋白抑制剂的氧化钝化作用还可能会使蛋白酶改造细胞表面，从而促进（调整）正常生长因子的活动[56]。

致癌作用的最后也是决定性的一步是肿瘤侵入和扩散到机体的各个部位和腔道。蛋白水解酶的释放会使基因活化，从而使这一步易于进行。尽管高水平的免疫细胞更易杀死细胞，但低水平的免疫细胞更易使细胞转移。超氧化物的释放更会促进细胞转移。超氧化物可钝化血浆抗蛋白酶，其中一些血浆抗蛋白酶对氧化失活作用很敏感[57]。

此外，脂质过氧化作用与致癌作用的某些步骤有关联。越来越多的证据表明，致癌物质或有毒物质与细胞大分子，尤其是那些携带遗传信息的细胞大分子以共价键结合，是致癌作用初始阶段的主要过程。因此，与细胞大分子的共价键结合是有毒物质诱导许多病态反应的基础。异型生物质的最终形式被认为是活性的亲电子代谢产物，它们与亲核的代谢产物结合。编码错误或突变作用可能在化学致癌作用中占次要位置，而较大基因组区域的遗传转位可能与化学致癌更有关一些[58]。

DNA 加合物、脱氧腺苷和脱氧鸟苷是丙二醛诱导脂质过氧化的产物，蓄积在人乳腺组织。这些加合物在乳癌细胞中比在正常乳房细胞具有较高浓度[59]。最近一项研究发现，血清维生素水平和脂质过氧化程度在胃癌患者中也相当高[60]。血浆中的抗坏血酸、α-生育酚、β-胡萝卜素和维生素 A 水平已有测定。在胃癌患者中的抗坏血酸水平不到对照组的五分之一，β-胡萝卜素和 α-生育酚的量也有同样的降低。

3. 神经疾病

生物膜的脂质过氧化反应可以引起神经突触和神经元的恶化，可以在脑卒中或神经紊乱如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病中观察得到。氧化压和氧化损伤是神经恶化公认的特征。阿尔茨海默病最重要的病理表现就是导致老年痴呆，老年痴呆涉及神经细胞区域化死亡和细胞内和细胞外损伤的积累[61]。4-羟基壬烯醛可以在神经突触介导谷氨酸转运和线粒体功能的氧化诱导损伤[62]。淀粉 β-蛋白可能参与膜脂质氧化的调制。淀粉 β-蛋白 25～35 片段在低浓度下能够通过与膜脂质发生物理化学反应而抑制脂质过氧化[63]。此外，抗氧化酶超氧化物歧化酶和亚铁血红素加氧酶-1 的增加水平与阿尔茨海默病中细胞骨架变形有密切的关系[64]。

自由基的检测和表征

ROS 涉及大量人类疾病的病理过程。它们的损伤潜力和病理角色需要有定量的方法来诊断，而且要考虑到基本的分析标准如精密度、重现性、灵敏度和专属性。此外，抗氧化活性的测定和量化对于候选药物的发现和评估都是十分重要的[65]。但是由于它们的高活性和短的半衰期，很难对 ROS 进行量化。对于由于 ROS 攻击脂质、酶或其他细胞组成物质而产生的次级产物或终极产物，则可以更好地进行检测。尽管科技的快速发展，但是这种间接方法得到的结果只有很差的特异性和灵敏度。

1. 化学发光测量法

化学发光是由化学源产生光的过程。内在的（非激发）或自然反应产生的光子的量子效率低，但是有机物质能够经历氧化反应而具有足够的热量产生激发状态。一般来说，产生的光在可见光范围内（400～600nm），但是紫外或红外激发也是有可能的。

由于自然化学发光的潜在可变性和低的光强度，于是引入发光增强剂[66]。选择这些物质主要是其具有高的量子效率和光子产率。发光氨和光泽精在体外生物系统中可以作为氧化增强剂，形成高激发态产物和化学发光。这些化合物与所有种类的氧化剂反应分别形成 3-氨基邻苯二甲酸酯和 *N*-丙烯酸甲酯。这些化合物中激发态的电子以发射光的形式回到基态，而光波长可通过光电倍增器检测到。发光氨和光泽精的敏感性是不一样的。发光氨检测 H_2O_2、HO·、低氯血、过亚硝酸盐和脂质过氧根，而光泽精对过氧化根特别敏感。如果细胞色素 *c*-亚铁血红素预先加入到发光氨中，就能利用化学发光法的非侵入法来测定 ROS，检测过氧化氢脂质、磷脂和胆固醇过氧化氢。

2. 丙二酰硫脲法（TBA 法）

TBA 法可能是测定脂质过氧化物使用最广泛的方法。脂质过氧化的代表性加合物丙二醛，与 TBA 形成 1∶2 的加合物，可以通过光谱法或荧光法加以测定。尽管测定方法多样，一般程序是在含 TBA 酸溶液中加热少量试样一定时间，然后测定 TBA 反应的红光的吸收率（535nm）。这个必须作为氧化压的指标，其代表了主要的脂质过氧化反应[67]。

Z

3. 超氧离子自由基的化学测定

黄色的硝基四氮唑蓝（NTB）还原成蓝色的甲臜可作为检测 $O_2^{\cdot -}$ 产生的探针而应用于生物系统。这个反应可用于指示宿主中的吞噬细胞（中性粒细胞，单核细胞，巨噬细胞）对感染和炎症的应答。经由一个黄素蛋白和一个细胞色素组成的 NADPH 氧化酶系时，氧气迅速减少。细胞色素有足够的低中间点电位，能使电子从 NADPH 直接催化转移到氧气上，由此产生超氧化物。

通过培养含有黄色 NBT 染料的等渗溶液细胞悬浮液，吞噬细胞的突发性呼吸可得以评定。在这个过程中，可溶性染料能与产生氧化剂相关的细胞质的组分相互作用。在超氧化物歧化酶的存在下，NBT 可由激活的细胞还原，即 NBT 会显著地减少[68]，显示了主要是由于氧化剂的作用，染料还原成蓝黑色沉淀物——甲臜。在给定的细胞数量下，NBT 的还原程度能通过分光光度法来测定还原的 NBT 或用甲臜的浓度来定量。

4. 用 HL-60 细胞培养体系进行细胞色素 c 还原分析

HL-60 是由 Collins 等得到的人类急性骨髓血癌细胞株[69]，具有 10%的自发变异。各种变异的诱导物，如 DMSO、TPA（12-*O*-四癸酰基佛波醇 13-乙酸酯）或维甲酸，导致 HL-60 细胞通过单核细胞或粒细胞途径变异。经 DMSO 处理的 HL-60 表现为粒细胞在形态学和功能上的改变，包括超氧负离子和吞噬作用的产生。由于吞噬作用，突发性呼吸产生 ROS，如在非线粒体氧化酶中的超氧负离子。在简单测试程序中，经 1.3% DMSO 处理分化的 HL-60 细胞通过加入 TPA 激发产生超氧负离子，被超氧负离子氧化的细胞色素 c 可在 550nm 的光吸收进行测定[70]。

5. 黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶

黄嘌呤氧化酶也可以产生氧自由基。此酶位于肝、小肠黏膜和脉管上皮细胞，可催化许多嘌呤酶底物的羟化作用。它能将次黄嘌呤转化成黄嘌呤，然后在分子氧的作用下转化成尿酸产生超氧负离子。在缺血过程中，黄嘌呤脱氢酶变成氧化型酶。与此同时，ATP 降解成次黄嘌呤并在缺血部位蓄积。当再灌注时，由于在高浓度次黄嘌呤存在下重新接纳了大量分子氧，而次黄嘌呤是黄嘌呤氧化酶的另一个底物，将会有超氧负离子突发产生。在体外系统，抗氧化剂的活性能通过由黄嘌呤氧化酶产生的尿酸吸收（292nm）测定。如果在实验样品中酶被抑制，黄嘌呤氧化酶则不能将黄嘌呤转化成尿酸[71]。

6. DPPH 测定法

DPPH（1,1-联苯-2-三硝基苯肼）是一种紫色的稳定自由基，能够被自由基还原成黄色的联苯三硝基联胺。DPPH 测定法检测一个电子，如贡献氢原子而提供一种清除自由基活性的方法。这种测定方法适用于复杂样品的初始筛分，如植物提取物。溶解在 DMSO 的样品和在无水乙醇中溶解的 DPPH 形成反应混合物，在 37℃下 96 孔板中培养 30min，在 515nm 下测吸光率[72]。

结论

如本章总结，ROS 参与人体疾病状态的重要反应。对这些病理过程的机理的理解正在形成。因而，能够设计干涉策略，且抗氧化剂也作为潜在药物而备受关注。现已明确，一般说来，阻止氧化损伤对人体健康有好处，但促氧化剂可能危害健康也必须牢记在心。多种测定系统目前已应用于大量已知的潜在抗氧化剂的完全表征，或者用于发现新的化学实体。通过这些工具和谨慎的临床前以及临床研究，将有可能设计出饮食对策或药物制剂来减少发病率和死亡率。

参 考 文 献

1. Chan, H. W.-S. The Mechanism of Autoxidation. In Autoxidation of Unsaturated Lipids; Chan, H. W.-S., Ed.; Academic Press: London, 1987; 1－16.
2. Gardner, H. W.; Kleiman, R.; Weisleder, D.; Inglett, G. E. Cysteine Adds to Lipid Hydroperoxide. Lipids 1977, 12, 655－660.
3. Dobretsov, G. E.; Borschevskaya, T. A.; Petrov, V. A.; Vladimirov, Y. A. The Increase of Phospholipid Bilayer Rigidity after Lipid Peroxidation. FEBS Lett. 1977, 84, 125－134.
4. Lenz, M. L.; Michael, L. H.; Smith, C. V.; Hughes, H.; Shappell, S. B.; Taylor, A. A.; Entman, M. L.; Mitchell, J. R. Glutathione Disulfide Formation and Lipid Peroxidation During Cardiac Ischemia and Reflow in the Dog in Vivo. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989, 164, 722－727.
5. Kuo, C-L.; Vaz, A. D. N.; Coon, M. J. Metabolic Activation of Trans-4-hydroxy-2-nonenal, a Toxic Product of Membrane Lipid Peroxidation and Inhibitor of P450 Cytochromes. J. Biol. Chem. 1997, 272, 22611－22616.
6. Cadenas, E.; Müller, A.; Brigelius, R.; Esterbauer, H.; Sies, H. Effects of 4-Hydroxynonenal on Isolated Hepatocytes. Biochem. J. 1983, 214, 479－487.
7. Alin, P.; Danielson, U. H.; Mannervi, K. B. 4-hydroxyalk-2-enals are Substrates for Glutathione Transferase. FEBS Lett. 1985, 179, 267－270.
8. Sadrzadeh, S. M. H.; Graf, E.; Panter, S. S.; Hallaway, P. E.; Eaton, J. W. Hemoglobin: A Biological Fenton Reagent. J. Biol. Chem. 1984, 259, 14354－14356.
9. Egan, R. W.; Paxton, J.; Kuehl, F. A., Jr. Mechanism for Irreversible Self-Deactivation of Prostaglandin Synthetase. J. Biol. Chem. 1976, 251, 7329－7335.

10. Harlan, J. M.; Callahan, K. S. Role of Hydrogen Peroxide in the Neutrophil-Mediated Release of Prostacyclin from Cultured Endothelial Cells. J. Clin. Invest. 1984, 74, 442—448.
11. Whorton, A. R.; Montgomery, M. E.; Kent, R. S. Effect of Hydrogen Peroxide on Prostaglandin Production and Cellular Integrity in Cultured Porcine Aortic Endothelial Cells. J. Clin. Invest. 1985, 76, 295—302.
12. Lesnefsky, E. J. Tissue Iron Overload and Mechanisms Of Iron-Catalyzed Oxidative Injury. In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy, Advances in Experimental Medicine and Biology; Armstrong, D., Ed.; Plenum Press: New York, 1994; 366, 129—146.
13. Gutteridge, J. M. Iron in Free Radical Reactions and Antioxidant Protection. In Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance; Özben, T., Ed.; Plenum Press: New York, 1998; 296, 1—14.
14. Jacob, R. A.; Burri, B. Oxidative Damage and Defense. Am. J. Clin. Nutr. 1996, 63, 985s—990s.
15. Kandaswami, C.; Middleton, E., Jr. Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Plant Flavonoids. In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy, Advances in Experimental Medicine and Biology; Armstrong, D., Ed.; Plenum Press: New York, 1994; 366, 351—376.
16. Santos, A. C.; Uyemura, S. A.; Lopes, J. L.; Bazon, J. N.; Mingatto, F. E.; Cutti, C. Effect of Naturally Occurring Flavonoids on Lipid Peroxidation and Membrane Permeability Transition in Mitochondria. Free Radical Biol. Med. 1998, 24, 1455—1461.
17. Blackburn, W. D.; Heck, L. W.; Wallace, R. W. The Bioflavonoid Quercetin Inhibits Neutrophil Degranulation, Superoxide Production, and the Phosphorylation of Specific Neutrophil Proteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987, 144, 1229—1236.
18. Valenzuela, A.; Guerra, R.; Garrido, A. Silybin Dihemisuccinate Protects Rat Erythrocytes Against Phenylhydrazine-induced Lipid Peroxidation and Hemolysis. Planta Med. 1987, 53, 402—405.
19. Valenzuela, A.; Lagos, C.; Schmidt, K.; Videla, L. A. Silymarin Protection Against Hepatic Lipid Peroxidation Induced by Acute Ethanol Intoxication in the Rat. Biochem. Pharmacol. 1985, 34, 2209—2212.
20. Mayne, S. T. β-Carotene, Carotenoids, and Disease Prevention in Humans. FASEB J. 1996, 10, 690—701.
21. Zhang, L.-X.; Cooney, R. V.; Bertram, J. S. Carotenoids Upregulate Connexin 43 Gene Expression Independent of Their Provitamin a or Antioxidant Properties. Cancer Res. 1992, 52, 5707—5712.
22. Bendich, A.; Shapiro, S. S. Effect of β-Carotene and Canthaxanthin on the Immune Responses of the Rat. J. Nutr. 1986, 116, 2254—2262.
23. Foote, C. S.; Denny, R. W. Chemistry of Singlet Oxygen. Ⅶ. Quenching by β-carotene. J. Am. Chem. Soc. 1968, 90, 6233—6235.
24. Krinsky, N. I. Actions of Carotenoids in Biological Systems. Annu. Rev. Nutr. 1993, 13, 561—587.
25. Sies, H.; Stahl, W. Vitamins E and C, β-carotene, and Other Carotenoids as Antioxidants. Am. J. Clin. Nutr. 1995, 62 (Suppl), 1315S—1321S.
26. Palozza, P. Prooxidant Actions of Carotenoids in Biological Systems. Nutr. Rev. 1998, 56, 257—265.
27. Schwartz, J. L. The Dual Roles of Nutrients as Antioxidants and Prooxidants: Their Effects on Tumor Cell Growth. J. Nutr. 1996, 126, 1221S—1227S.
28. Iftikhar, S.; Lietz, H.; Mobarhan, S.; Frommel, T. O. In Vitro β-carotene Toxicity for Human Colon Cancer Cells. Nutr. Cancer 1996, 25, 221—230.
29. Paolini, M.; Pozzetti, L.; Pedulli, G. F.; Marchesi, E.; Cantelli-Forti, G. The Nature of Prooxidant Activity of Vitamin C. Life Sci. 1999, 64 (PL), 273—278.
30. Paolini, M.; Pozzetti, L.; Pedulli, G. F.; Cipollone, M.; Mesirca, R.; Cantelli-Forti, G. Paramagnetic Resonance in Detecting Carcinogenic Risk from Cytochrome P450 Overexpression. J. Invest. Med. 1996, 44, 470—473.
31. Song, J. H.; Shin, S. H.; Ross, G. M. Prooxidant Effects of Ascorbate in Rat Brain Slices. J. Neurosci. Res. 1999, 58, 328—336.
32. Zhang, D.; Okada, S.; Yu, Y.; Zheng, P.; Yamaguchi, R.; Kasai, H. Vitamin E Inhibits Apoptosis, DNA Modification, and Cancer Incidence Induced by Iron-mediated Peroxidation in Wistar Rat Kidney. Cancer Res. 1997, 57, 2410—2414.
33. Ottino, P.; Duncan, J. R. Effect of α-Tocopherol Succinate on Free Radical and Lipid Peroxidation Levels in BL6 Melanoma Cells. Free Radical Biol. Med. 1997, 22, 1145—1151.
34. Kim, J. E.; Shklar, G. The Effect of Vitamin E on the Healing of Gingival Wounds in Rats. J. Periodontal. 1983, 54, 305—308.
35. Kontush, A.; Finckh, B.; Karten, B.; Kohlschütter, Beisiegel, U. Antioxidant and Prooxidant Activity of α-tocopherol in Human Plasma and Low Density Lipoprotein. J. Lipid. Res. 1996, 37, 1436—1448.

Z

36. Ciaccio, M.; Valenza, M.; Tesoriere, L.; Bongiorno, A.; Albiero, R.; Livrea, M. A. Vitamin A Inhibits Doxorubicin-Induced Membrane Lipid Peroxidation in Rat Tissues in Vivo. Arch. Biochem. Biophys. 1993, 302, 103—108.
37. Freyaldenhoven, M. A.; Lehman, P. A.; Franz, T. J.; Lloyd, R. V.; Samokyszyn, V. M. Retinoic Acid-Dependent Stimulation of 2, 2′-Azo bis (2-Aminopropane)-Initiated Autoxidation of Linoleic Acid in Sodium Dodecyl Sulfate Micelles: A Novel Prooxidant Effect of Retinoic Acid. Chem. Res. Toxicol. 1998, 11, 102—110.
38. Bolton, J. L.; Pisha, E.; Shen, L.; Krol, E. S.; Iverson, S. L.; Huang, Z.; van Breemen, R. B.; Pezzuto, J. M. The Reactivity Of *O*-quinones Which Do Not Isomerize to Quinone Methides Correlates with Alkylcatechol-Induced Toxicity in Human Melanoma Cells. Chem. Biol. Interact. 1997, 106, 133—148.
39. Morgan, J. F.; Klucas, R. V.; Grayer, R. J.; Abian, J.; Becana, M. Complexes of Iron With Phenolic Compounds from Soybean Nodules and Other Legume Tissues: Prooxidant and Antioxidant Properties. Free Radical Biol. Med. 1997, 22, 861—870.
40. Decker, E. A. Phenolics: Prooxidants or Antioxidants. Nutr. Rev. 1997, 55, 396—407.
41. Sergediene, E.; Jönsson, K.; Szymusiak, H.; Tyrakowska, B.; Rietjens, I. M. C. M.; Čenas, N. Prooxidant Toxicity of Polyphenolic Antioxidants to HL-60 Cells: Description of Quantitative Structure-activity Relationships. FEBS Lett. 1999, 462, 392—396.
42. Yamanaka, N.; Oda, O.; Nagao, S. Prooxidant Activity of Caffeic Acid, Dietary Non-flavonoid Phenolic Acid, on Cu^{2+}-Induced Low Density Lipoprotein Oxidation. FEBS Lett. 1997, 405, 186—190.
43. Metodiewa, D.; Jaiswal, A. K.; Cenas, N.; Dickancaitė, E.; Segura-Aguilar, J. Quercetin May Act as a Cytotoxic Prooxidant after its Metabolic Activation to Semiquinone and Quinoidal Product. Free Radical Biol. Med. 1999, 26, 107—116.
44. Dubey, R. K.; Tyurina, Y. Y.; Tyurin, V. A.; Gillespie, D. G.; Branch, R. A.; Jackson, E. K.; Kagan, V. E. Estrogen and Tamoxifen Metabolites Protect Smooth Muscle Cell Membrane Phospholipids Against Peroxidation and Inhibit Cell Growth. Circ. Res. 1999, 84, 229—239.
45. Kühn-Velten, W. N.; Pippirs, U. Novel Connections Between NADPH-Induced Lipid Peroxidation and Cytochrome P450 Inactivation, and Antioxidant and Enzyme Protective Properties of Estradiol in Gonadal Membranes. Free Radical Res. 1997, 26, 125—133.
46. Bolton, J. L.; Shen, L. P-quinone Methides Are the Major Decomposition Products of Catechol Estrogen *O*-quinone. Carcinogenesis 1996, 17, 925—929.
47. Lacort, M.; Leal, A. M.; Liza, M.; Martín, C.; Martinez, R.; Riuz-Larrea, M. B. Protective Effect of Estrogens and Catecholestrogens Against Peroxidative Membrane Damage in Vitro. Lipids 1995, 30, 141—146.
48. Han, X.; Liehr, J. G. Microsome-mediated 8-Hydroxylation of Guanine Bases of DNA by Steroid Estrogens: Correlation of DNA Damage by Free Radicals With Metabolic Activation to Quinones. Carcinogenesis 1995, 16, 2571—2574.
49. Markides, C. S. A.; Roy, D.; Liehr, J. G. Concentration Dependence of Prooxidant and Antioxidant Properties of Catecholestrogens. Arch. Biochem. Biophys. 1998, 360, 105—112.
50. Ferrari, R. Oxygen-free Radicals at Myocardial Level: Effects of Ischemia and Reperfusion. In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy; Armstrong, D., Ed.; Plenum Press: New York, 1994; 366, 99—111.
51. Singal, P. K.; Kapur, N.; Dhillon, K. S.; Beamish, R. E.; Dhalla, N. S. Role of Free Radicals in Catecholamineinduced Cardiomyopathy. Can. J. Physiol. Pharmacol. 1982, 60, 1390—1397.
52. Moreno, A. J.; Santos, D. J.; Palmeira, C. M. Ischemic Heart Disease: The Role of Mitochondria-carvedilol Prevents Lipid Peroxidation of Mitochondrial Membranes. Rev. Port. Cardiol. 1998, 17 (Suppl. 2), II63—77.
53. Facinó, R. M.; Carini, M.; Aldini, G.; Berti, F.; Rossoni, G.; Bombardelli, E.; Morazzoni, P. Procyanidines From Vitis vinifera Seeds Protect Rabbit Heart from Ischemia/Reperfusion Injury: Antioxidant Intervention And/or Iron and Copper Sequestering Ability. Planta Med. 1996, 62, 495—502.
54. Ray, P. S.; Maulik, G.; Cordis, G. A.; Bertelli, A. A. E.; Bertelli, A.; Das, D. K. The Red Wine Antioxidant Resveratrol Protects Isolated Rat Hearts from Ischemia Reperfusion Injury. Free Radical Biol. Med. 1999, 27, 160—169.
55. Maffei, F. R.; Carini, M.; Aldini, G.; Berti, F.; Rossoni, G. Panax Ginseng Administration in the Rat Prevents Myocardial Ischemia-reperfusion Damage Induced by Hyperbaric Oxygen: Evidence for an Antioxidant Intervention. Planta Med. 1999, 65, 614—619.
56. Burdon, R. H. Carcinogenesis and Free Radicals. In Free Radicals: From Basic Science To Medicine, Molecular and Cell Biology Updates; Poli, G., Albano,

E., Dianzani, M. U. Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel, 1993; 187—198.

57. Floyd, R. A. Role of Oxygen Free Radicals in Carcinogenesis and Brain Ischemia. FASEB J. 1990, 4, 2587—2597.
58. O'Brien, P. J. Antioxidants and Cancer: Molecular Mechanisms. In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A Systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy, Advances in Experimental Medicine and Biology; Armstrong, D., Ed.; Plenum Press: New York, 1994; 366, 215—239.
59. Wang, M.; Dhingra, K.; Hittelman, W. N.; Liehr, J. G.; de Andrade, M.; Li, D. Lipid Peroxidation-induced Putative Malondialdehyde-DNA Adducts in Human Breast Tissues. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1996, 5, 705—710.
60. Choi, M-A.; Kim, B-S.; Yu, R. Serum Antioxidative Vitamin Levels and Lipid Peroxidation in Gastric Carcinoma Patients. Cancer Lett. 1999, 136, 89—93.
61. Smith, M. A.; Harris, P. L.; Sayre, L. M.; Perry, G. Iron Accumulation in Alzheimer's Disease is a Source of Redox-Generated Free Radicals. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1997, 94, 9866—9868.
62. Keller, J. N.; Mark, R. J.; Bruce, A. J.; Blanc, E.; Rothstein, J. D.; Uchida, K.; Waeg, G.; Mattson, M. P. 4-Hydroxynonenal, an Aldehydic Product of Membrane Lipid Peroxidation, Impairs Glutamate Transport and Mitochondrial Function in Synaptosomes. Neuroscience 1997, 80, 685—696.
63. Walter, M. F.; Mason, P. E.; Mason, R. P. Alzheimer's Disease Amyloid β Peptide 25—35 Inhibits Lipid Peroxidation As a Result of Its Membrane Interactions. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997, 233, 760—764.
64. Smith, M. A.; Perry, G. The Role of Oxidative Stress in the Pathological Sequelae of Alzheimer's Disease. In Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance; Özben, T., Ed.; Plenum Press: New York, 1998; 296, 195—204.
65. Lee, S. K.; Mbwambo, Z. H.; Chung, H.; Luyengi, L.; Gamez, E. J.; Methta, R. G.; Kinghorn, A. D.; Pezzuto, J. M. Evaluation of the Antioxidant Potential of Natural Products. Comb. Chem. High Throughput Screen 1998, 1, 35—46.
66. Allen, R. C.; Loose, L. D. Phagocytic Activation of a Luminol-Dependent Chemiluminescence in Rabbit Alveolar and Peritoneal Macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976, 69, 245—253.
67. Yagi, K. A Simple Fluorometric Assay for Lipoperoxide in Blood Plasma. Biochem. Med. 1976, 15, 212—216.
68. Maly, F-E.; Nakamura, M.; Gauchat, J-F.; Urwyler, A.; Walker, C.; Dahinden, C. A.; Cross, A. R.; Jones, O. T. G.; Weck, A. L. Superoxide-dependent Nitroblue Tetrazolium Reduction and Expression of Cytochrome b_{245} Components by Human Tonsillar Lymphocytes and B Cell Lines. J. Immunol. 1989, 142, 1260—1267.
69. Collins, S. J.; Gallo, R. C.; Gallagher, R. E. Continuous Growth and Differentiation of Human Myeloid Leukemic Cells in Suspension Culture. Nature 1977, 270, 347—349.
70. Suh, N.; Luyengi, L.; Fong, H.; Kinghorn, A. D.; Pezzuto, J. M. Discovery of Natural Product Chemopreventive Agents Utilizing HL-60 Cell Differentiation as a Model. Anticancer Res. 1995, 15, 233—240.
71. Sheu, S-Y.; Lai, C-H.; Chiang, H-C. Inhibition of Xanthine Oxidase by Purpurogallin and Silymarin Group. Anticancer Res. 1998, 18, 263—267.
72. Kirby, A. J.; Schmidt, R. J. The Antioxidant Activity of Chinese Herbs for Eczema and of Placebo Herbs-I. J. Ethnopharmacol. 1997, 56, 103—108.

（黄 冲 何 军 译）

Z

Z

最优化方法

Gareth A. Lewis

Sanofi-Synthelabo, Chilly Mazarin, France

引言

1. 何为最优化?

配方或者工艺的最优化，是探索可行的最理想成分搭配或者操作条件的过程。实现成分搭配和操作条件达到理想化是一项艰巨的任务，甚至可能是一项不可能完成的任务，当然也是没有必要的，而且在实际操作中，一般认为最优化是在寻找一个令人满意的，同时在有限的搜索区间内最好的可能结果。这样，通过先前的一些经验，运用专业知识（可能会使用一个专业系统），抑或使用下面将要提到的系统筛选，可以选择一个配方的种类和成分，这样通过改变辅料的相对（或总）比例来寻找一个最理想的终止点，抑或选择一个工艺，然后通过研究来寻找能得到所需制剂特性的最佳操作条件。上述两例都是最优化研究。本章我们将集中介绍基于统计学实验设计的最优化。

2. 筛选、因素考察和最优化

系统筛选和因素考察研究都和最优化有紧密联系，在开发过程中它们是连续的几个阶段，而且都涉及统计学实验设计。例如，在生产过程中，筛选法被用来确认一些重要而且关键的因素。因素考察是对在改变一些潜在的关键步骤和配方参数后产生的影响的定量研究。它们包含了析因设计，也经常统称为筛选研究，不过得到关系常常用来进行最优化研究。

至于进行何种研究是由项目的不同阶段来决定的。特别是实验设计可能分阶段进行，一个因素考察试验可能通过深入实验而延伸出精准最优化所需要的详细信息。在这里一定要强调一点，对预实验模型的选择和实施直接决定了统计实验设计的质量，而且必须在进行正式实验之前对预实验的质量进行评估。

3. 简要的历史回顾

以统计学方式进行筛选、因素考察和最优化由来已久：析因设计始于1926年[1]；筛选设计始于1946年[2]；Box和Wilson于1951年提出了对响应面最优化的中心组合设计[3]。从20世纪70年代早期开始这些技术的应用在药学文献中便有所介绍，只不过在1988年这类文章的数量才开始忽然猛增，而且依然在持续增长。不要再认为实验设计是一项艰难或繁琐的工作了。这些变化自然应该归功于计算能力强、相对便宜、使以前认为困难或高深的方法得以应用的高性能软件。尤其是现在特别关注稳定的工艺和配方，而且在对非线性和高度关联反应的处理方面也有进步。

4. 最优化方法

一共有四种主要方法。

(1) 运用统计学而设计的实验。实验被安排成一个（通常是正则的）矩阵来推算在数学模型里的各种参数，这个数学模型可用来预测所研究的工艺条件和配方的响应。如果实验区间准确地界定，这通常是最有效的办法，而且是多数此类文献研究的课题。

(2) 直接最优化法。最有名的是单纯形演算法，是一个快速而且有效的测定实验域的方法，最好与最优化实验设计相结合。

(3) 单因素实验法。在这个实验里先改变第一个因素来找到最佳值，然后进行下一个。它的缺点是，如果是多重响应或者因素间有强烈的交互作用的话，这个方法即无效。

(4) 非系统方法。这个方法是靠实验者自己的知识和直觉来改进实验，在有经验的实验者手下，同时改变几个因素往往能达到令人惊喜的成功。不过如果实验者不是很有技巧或者比较不走运，他可能浪费掉大量的时间和资源。

人工智能和专家系统的应用在本章的其他地方也有所提及。

筛选

1. 寻找一个适合最优化的配方

一旦型剂选定后，必须要确定辅料。如何选择它们要考虑实际的时间和资源，这些往往是由专利、公司运作，或通过专业知识决定的。尽管如此，对每种用途试用几个不同的辅料往往是可行或必须的，例如，试用几种稀释剂、润滑剂、黏结剂。这种方法在药物-辅料相容性测试中非常有用，此种测试中按照统计学的筛选方法来设计基本配方，从而检验其稳定性和相容性。

这里的“因素”就是辅料的作用。它可以有不同的水平，而这个水平可以被认为是辅料本身。所以因素可以是“黏合剂”，而水平可以是HPMC、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯乙酸酯，不含崩解剂。用一个数学模型把响应（在此处是崩解）和成分组成联系起来。这里面包含了与各因素对应的各辅料（品质）水平不同而引起的变量。Plackett和Burman[5]描述了处理此类问题的实验设计。只有两种因素水平的设计现在广泛运用，然而，也有其他一些设计有3、

4 和 5 水平，更有由它们派生的不对称设计，其中多种因素有不同的水平数[5,6]。

假定因素之间没有任何交互作用，也就是说，一个指定的辅料对稳定性的影响并不受这个配方中其他辅料的影响（其他多种因素或响应都是这种推理）。这个仅仅可以被视为一个不精确结论。尽管如此，如果有必要将交互作用计算在内的话，就要进行很多其他实验，而且若要实验数量能够管理得过来，我们可能要将每个因素的水平数限制为两个。

辅料的选择可以认为是定性最优化，但它们的定量组成迄今为止还未优化过。这个问题和使用的工艺只是一个小型的实验室规模的事实可能会影响辅料的选择。尽管如此，在大多数情况下这是一个无法避免的局限。

表 1 给出了一个定性筛选的例子。这是一个检测实验药物（在两个不同的浓度下）与几种不同辅料间的相容性的实验设计。实验样品，湿法制备的颗粒，在 50℃/50% RH 下储存了三个星期。表 1 中列出了相应的实验结果。平均降解程度较高，为 6.2%，说明这是一个相当不稳定的药物。每种辅料的影响通过线性回归计算，或者因为这是个正交设计，在图 1 中通过响应的线性组合利用图解求得。将其他辅料设定在一个假定的平均值，图中每种辅料的降解按各自种类而计算得出（如崩解剂）。这样，镁的值就是所有含硬脂酸镁混合物的响应平均值，而硬脂酸盐对其响应的影响就是这个图形总体平均值的差别。

表 1 预处方制粒的实验设计和计划

序号	稀释剂	崩解剂	润滑剂	黏合剂	剂量/%	降解
1	乳糖	CCNa[1)]	硬脂酸镁	PVP	0.25	12.26
2	纤维素[2)]	CCNa	硬脂酸镁	HPMC	1.0	7.27
3	磷酸盐[3)]	CCNa	山嵛酸甘油酯	PVP	1.0	11.43
4	甘露醇	CCNa	山嵛酸甘油酯	HPMC	0.25	4.94
5	乳糖	NaSG[4)]	山嵛酸甘油酯	HPMC	1.0	1.63
6	纤维素	NaSG	山嵛酸甘油酯	PVP	0.25	4.56
7	磷酸盐[3)]	NaSG	硬脂酸镁	HPMC	0.25	2.49
8	甘露醇	NaSG	硬脂酸镁	PVP	1.0	4.79

1）交联羧甲基纤维素钠。

2）微晶纤维素。

3）磷酸氢钙。

4）羧甲基淀粉钠。

通过分析这些结果可以发现：崩解剂和黏合剂对试验结果有主要影响，而含羟甲基淀粉钠和 HPMC 的混合物要依次比其他含交联羧甲基纤维素钠和聚乙烯吡咯烷酮的处方稳定。稀释剂的影响很小，不过，对于储存在低湿度条件下的混合物会有更大的作用。当混合物有微晶纤维素，尤其是含有磷酸钙时，会比其他含有乳糖或者甘露醇的处方更不稳定。这样，含有乳糖、羟甲基淀粉钠、HPMC 和硬脂酸镁（最后一个选中它是因为可行性的原因，在这里它在稳定性上和山嵛酸甘油酯并无差别）的处方被拟定出来，而且达到了要求的稳定性。

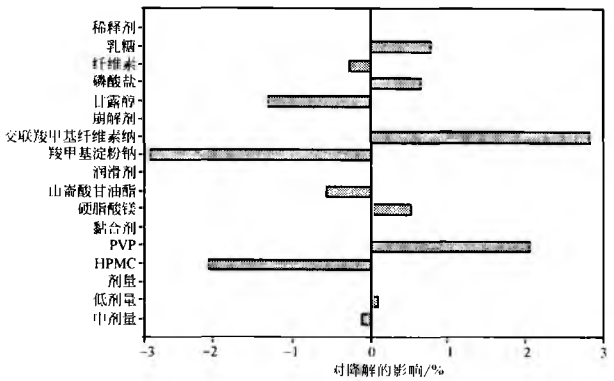


图 1 相容性试验——按表 1 计算的辅料相对于假定的平均值参比状态的影响

2. 在优化工艺之前

在这里关键的问题是设备的选择，而它取决于实验室和工厂可以用什么。这一环节也许有很多因素要去考察，因此最好在优化工艺前先去确定一些关键的因素。这一步一般在实验室规模下进行，然而正式最优化是在中式规模下进行。

工艺因素大多是定量而且是连续的，因此一般在筛选和因素影响考察中测定两个程度，即最低值和最高值。这样，可以用效率较高的、两水平 Plackett-Burman 设计和两水平析因设计来筛选。例如，在筛选中（假设无交互作用），多至 11 个因素（两水平连续的或不连续的），可能通过 12 次实验来考察（表 2）。每个因素间最大值和最小值的差异通常比较大。这样的考察为最优化工艺减少了障碍。

表 2 12 次实验的 Plackett-Burman 设计

实验	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}
1	+1	+1	−1	+1	+1	+1	−1	−1	−1	+1	−1
2	−1	+1	+1	−1	+1	+1	+1	−1	−1	−1	+1
3	+1	−1	+1	+1	−1	+1	+1	+1	−1	−1	−1
4	−1	+1	−1	+1	+1	−1	+1	+1	+1	−1	−1
5	−1	−1	+1	−1	+1	+1	−1	+1	+1	+1	−1
6	−1	−1	−1	+1	−1	+1	+1	−1	+1	+1	+1
7	+1	−1	−1	−1	+1	−1	+1	+1	−1	+1	+1
8	+1	+1	−1	−1	−1	+1	−1	+1	+1	−1	+1
9	+1	+1	+1	−1	−1	−1	+1	−1	+1	+1	−1
10	−1	+1	+1	+1	−1	−1	−1	+1	−1	+1	+1
11	+1	−1	+1	+1	+1	−1	−1	−1	+1	−1	+1
12	−1	−1	−1	−1	−1	−1	−1	−1	−1	−1	−1

2.1 因素筛选方法

因为可能要筛选相当多的因素，所以假想模型一定要简单。一般假定响应 y 取决于因素 x_i 各自的水平（值或状态）而不是综合水平。这样这个模型就是一级的，例如：

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_4 + \beta_5 x_5 + \varepsilon$$

如果因素是定量的，它们会设为极值。这样，如果这个因素是制粒时间，而可能的区间是1.5～7min，那测试的标准值将是1.5min和7min。它们通过无因次“代码变量”来表达，一般取值－1和＋1。这样，当转换成代码变量 x_1 的时候，$x_1 = -1$ 代表1.5min，而 $x_1 = +1$ 代表7min。

如果因素是定量的，它们可能有不同的水平。在这里我们只介绍两水平设计。定性的水平可任意设定为代码水平。例如，过筛方法是被测试的因素之一，那么湿法过筛被设为－1，而干法过筛被设定为＋1（或反之亦然）。

定量因素筛选的区间通常都比较大，那么当因素间交互作用被考虑在内时或者确定一个用来最优化的预测模型时，这个区间经常会被缩小，从而对因素的影响做更细致的定量考察。

这个由Plackett和Burman于1946年提出的设计是由4的倍数次实验组成的[2]。它们最多可以筛选数量比实验次数少一个的因素。这些2″次实验（4、8、16、32H）也属于部分析因设计。非析因设计有特别性质和复杂的“混淆现象”，这些特性会让实验分析变得有难度，不过表现出了析因设计所不具备的一些优势。如表2中用代码变量所示的12次实验设计，就属于这类的设计，而且对于7～11个因素的优化非常有用。

这个设计的结构在表格里表示得很清楚，这是因为实验是按标准次序进行的。不过，它们其实应该按随机次序进行，这里描绘的所有设计都应如此，可行的话越随机越好。

系数 β_i 是因素 X_i 的效应，等于因素水平从 $x_i = -1$ 到 $x_i = +1$ 而引起的响应 y 平均改变值的一半。这是在Plackett-Burman设计里（用 b_i 表示）通过用 $x_i = +1$ 的响应之和减去 $x_i = -1$ 的响应之和，然后用这个差除以实验数目而估算出的。通过它们的绝对值判断其影响是否重要（如何从一个析因设计的结果里确定有效因素稍后将说明）。

2.2 筛选设计结果的使用

对效果的估计可以确认有影响或可能有影响的因素。无影响的因素（或影响很小）就不需要进一步研究了。它们可以设在中点上，或设在最经济的水平上（如较短的混合时间），或者尽管效果看起来不怎么明显，还是设在看似最佳的水平上。

在剔除了无影响的因素后，可能相对于可利用资源（时间、原材料、操作者、设备可获得性等）来说要最优化的因素还是太多。通常可以将这些影响较小的因素设为定值，或设为最佳水平然后优化其余因素。在更复杂的情况下，建议在筛选和最优化之间进行一个更细致的考察（响应面考察）。这可以作为筛选考察最后一步，即通过补充的迭代（fold over）[3,7]设计或通过一个单独的定量研究来分别计算因素的个体影响或它们的双重交互影响（稍后将在析因设计里说明）。

对工艺的考察通常都是在配方的最优化完成之后进行的。不过，因为配方变化和工艺变化的影响通常并不是独立的，必要的话也许要在配方优化的同时进行一些工艺考察。

使用析因设计的定量工艺考察

1. 目的

筛选考察的目的是确定众多因素中那些对工艺或者配方有影响的因素，而因素考察是定量地确定不同的因素对响应变量的综合影响。水平数通常也限制为两个，但是进行充分的实验可以考察因素间的交互作用。

两水平全面析因设计

此类设计中最简单的是 2^k 全面析因设计，这里的试验是所有 k 因素的两水平变量的 2^k 概率结合。这样，它们由与2、3、4、5、6H因素对应的4、8、16、32、64H实验组成。表3给出了 2^2、2^3 和 2^4 设计的例子（每个在右边和下边被实线圈起来）。这样，1和2列的1～4行展示了一个两因素的 2^2 设计，而1～4列的1～16行是四因素的 2^4 设计。

表3 2～5因素的全面或部分析因分析[1)]

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	响应
1	－1	－1	－1	－1	1	189
2	1	－1	－1	－1	－1	56
3	－1	1	－1	－1	－1	94
4	1	1	－1	－1	1	80
5	－1	－1	1	－1	－1	212
6	1	－1	1	－1	1	212
7	－1	1	1	－1	1	76
8	1	1	1	－1	－1	125
9	－1	－1	－1	1	－1	351
10	1	－1	－1	1	1	534
11	－1	1	－1	1	1	275
12	1	1	－1	1	－1	219
13	－1	－1	1	1	1	154
14	1	－1	1	1	－1	752
15	－1	1	1	1	－1	374
16	1	1	1	1	1	478

1) 2^{5-1} 部分析因设计的粒径响应（μm）。

采用因素变量在各－/＋1水平的正常值或者实验值可以将此设计变成一个实验计划。和这个设计有关的数学模型包含各变量的“主要影响”加各种可能的“交互影响”，在两个变量间，同样也在三个和四个因素间产生交互作用，事实上，在这个模型里所有的因素间都存在可能的交互作用。不过，两因素的交互作用比较重要，三因素交互作用通常就不怎么重要了。更多阶的交互作用通常都被忽略，而它们产生的影响构成实验系统随机误差的一部分。

2. 从析因设计的结果确定有效因素

我们引用四因素模型作为例子。完整协同数学模型由常数组、四个主要变量（$\beta_1 x_1 \cdots \beta_1 x_4$）、六个两因素间交互作用（$\beta_{12} x_1 x_2$ 等）、四个三因素间交互作用（$\beta_{123} x_1 x_2 x_3$ 等），还有一个四因素间交互作用组成。最后五个通常认为是不重要的，这个模型就是

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 \cdots + \beta_{12} x_1 x_2 \cdots + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \cdots + \beta_{1234} x_1 x_2 x_3 x_4 + \varepsilon$$

影响（系数）β_n 在这个模型里是估算出的，通常是通过多元线性回归。因为随机实验误差（在公式里通过 ε 表达）得到的值 b_i 是近似值。下一步是来决定 15 种影响里哪些是有效的或者重要的。

有多种办法实现这一目的。通过重复实验，ANOVA 会揭示出哪些影响在统计学上是重要的。否则，我们依赖于多数影响是较小的而且随机散布在零附近的事实。这样，我们寻找那些与众不同、有最大绝对值的影响[6]。绘制它们的数值的正态概率图是一个广泛应用的方法。

响应通常分开处理，不过，如果要研究一些更强或更弱的相互关联的响应，也许要分析适当组合（主要成分）而不是原本的响应[9]。

一旦确定了重要影响，就能设计出一个更简单的模型。如果确定了一个交互关系项，那与其相关的主要影响也应包含在这个模型里，尽管它们并不一定都是有效的。这样，如果 X_1 和 X_2 有交互作用而其中的主要影响因素 X_1 是有效的，$b_2 x_2$ 也应该和 $b_1 x_1$ 和 $b_{12} x_1 x_2$ 一起被包含在这个模型里。

3. 两水平部分析因设计

在一个全面析因设计里面考察五个或者更多因素需要做很多实验，而要来确定主要影响和它们间的交互作用，取全面实验设计的一部分就足够了。这就是 $2k-r$ 部分析因设计，r=1、2、H 代表一半，四分之一等分数。考察 5 因素（2^{5-1}）的一个半份析因设计在表 2 中给出（整个表格）。注意看一开始的四栏和这四个因素的全面析因设计完全一样，而第五栏是由将前四栏相乘而得出的。构建这样的设计以及它们的局限性在很多教材中都有解释[5~7]。

很明显，在这个 2^{5-1} 设计中，三倍和更高的交互作用没被确定。事实上，它们和计算出的影响混淆了。因此，对因素一与因素二交互作用的估计包含了与其他三个因素的三重交互作用。因为后者被认为是可以忽略的，一般都不怎么重要。

Menon 等采用这种设计考察了使用流化床制粒制备小丸[8]。研究的五个因素是黏合剂浓度（X_1）、加入方式（干或湿）（X_2）、雾化压力（X_3）、喷射速度（X_4）和进口温度（X_5）。表 3 给出了所得微粒的大小。

此模型的系数是用线性回归计算（这里用的是粒径的对数），然后制成一个正态累积分布图（图 2）。重要的系数是比较大的正数或负数，例如，在喷射速度 b_4 和雾化压力还有进口温度 b_{35} 间的交互作用。在此图上没有标出的可认为是没有显著性意义的系数，大多数可以作为实验误差处理。此公式就可以简化为只含有重要项。不过，如果交互作用被考虑在内，它们的主要影响也要被考虑在内，尽管它们的数值较小。在这里，我们有

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_4 + \beta_5 x_5 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{14} x_1 x_4 + \beta_{15} x_1 x_5 + \beta_{35} x_3 x_5$$

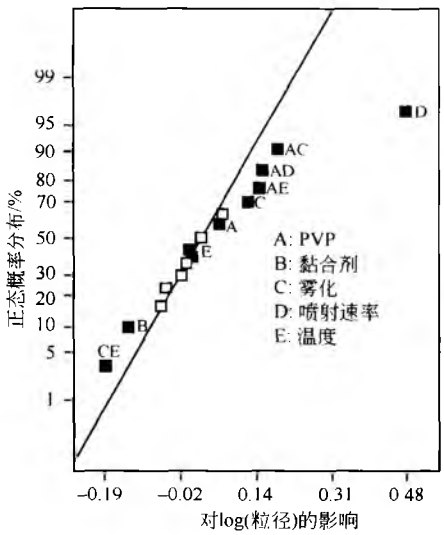


图 2 两水平析因设计中计算的效应[8]。线左右两侧的因素是重要的

4. 可以获得的信息

有意义的重要影响已经识别而且量化了。因而在研究过的范围内增加喷射速度将增加 log（粒径）两个 0.24，表示超过三倍的增长。不过，可以看出来这里有一个与黏合剂浓度的交互作用；那就是，喷射速度的影响取决于这个配方中黏合剂的量。图 3 显示了在黏合剂用量高和低的情况下分别增加喷射速度而导致的影响，黏合剂用量较高时喷射速度的影响更大。

不过，黏合剂的影响受其他两个因素——雾化压力和进口温度——的交互作用。这样，就不能独立地考虑单个变量。

同时请注意较大型设计（16 次或更多次实验）里往往含有大量信息，而且，特别是有时可以获得一些与工艺稳定性有关的因素的信息（参考最后一节）。

5. 中心点的使用

无论在进行定量因素筛选还是影响因素考察过程中，都会试图在上限和下限范围内插入中间值。如果仅仅是为了找到一个更小的区间来进行进一步考察的话，就显得非常有用。不过，在系统筛选的例子里，研究的界限往往大到几乎不可能令估计的模型准确到能进行预测的程度，而且在实验域内也可能会发生响应面弯曲的现象。在更细致

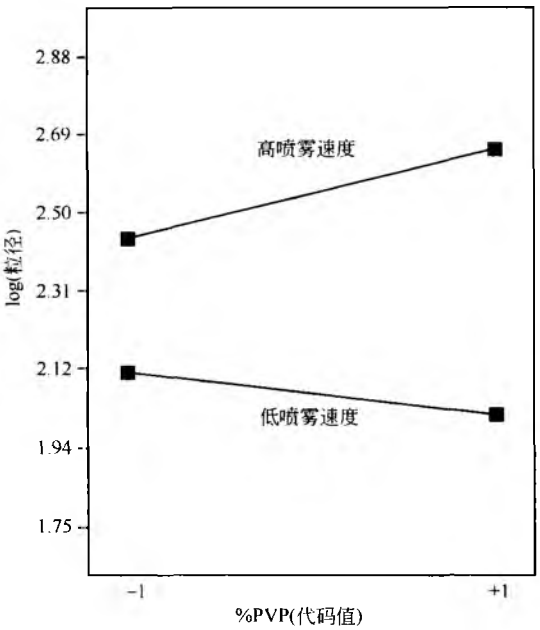


图 3 两水平析因设计中计算的效应。喷雾速度和 PVP 用量对 log（粒径）的影响

的析因研究里进行这样的尝试危险性会小些，不过就算这样，也要谨慎地使用它们。

加入中心点［在实验域的中心进行的实验，坐标代码（0，0，…，0）对析因和筛选试验有帮助］，尽管它们并不进入模型公式的计算里，因为：

（1）它们往往是位于或接近最值得关注的条件的优先点；

（2）通过它们可以进行响应面弯曲程度的识别（通过比较计算的和测试出的响应）；

（3）如果它们重复出现，就能考察实验的重现性；

（4）它们也许能使此实验的后续阶段扩充成一个给响应面建模的中心组合设计（后面再表述）。

工艺优化的实验设计（独立变量）

本节中，我们将关注如何求得一个在整个实验域内能对响应进行定性预测的数学模型的途径。若此模型依赖于两个因素，可以考虑将这个响应绘制成一个地形图，如等高线图或者三维图（图 4）。若因素更多的话，我们可以在除了两个因素外所有因素均为常数值的条件下将此曲面“切片”来展现。配方和工艺都可用这些方法来优化。

1. 数学模型

所采用的设计也就是所提出的模型的一个函数式。因而，如果我们认为主要响应在实验域内变化相对较小的话，就采用一阶多项式。如果实验者想要先进行少量的实验来检查初始的设想的话也是这样。不过可能会换用二阶（二次）多项式模型。二阶多项式最常用于在五个变量以下的响应面建模和工艺优化。

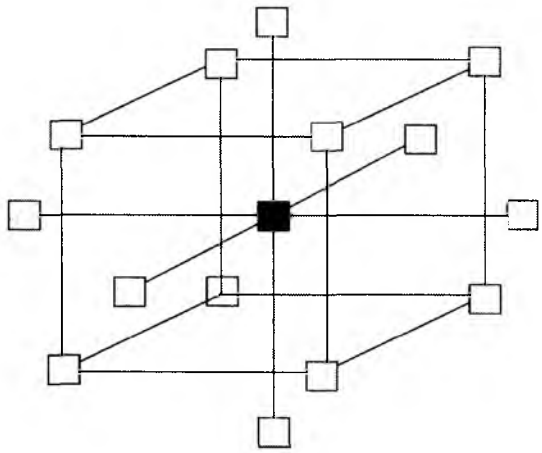


图 4 三因素的中心组合设计。因素点为灰色的，轴点为空心的，中心点为黑色的

此五因素一阶模型即为一个多项式模型的例子：

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_4 + \beta_5 x_5 + \varepsilon$$

二因素二阶模型为

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \varepsilon$$

此模型的系数用数据的多重线性最小二乘法回归来估算。

三阶模型在工艺考察中很少用到，而且在任何情况下，只有在变量三阶项被显示为必要的时候才会加入（例如，二阶模型及其对应的设计的扩增）。这并不代表只要二阶设计就足够了，用其他方法来构建响应面在某些情况下也许是有益的。

2. 一阶模型的统计学实验设计

此设计必须能估计对一阶模型的影响，最好能避免因素和其他变量间交互影响导致的干扰。它还要允许能对这个模型的适用性进行检查，而且尤其重要的是，对存在的响应面曲率（中点）进行检查。在这里可以采用两水平析因设计（稍后描述）。

当使用一个一阶模型时不管有或没有交互作用需要注意的重点如下：

（1）响应的最大值和最小值需要在实验域边缘预测出。

（2）通常在响应面未发生弯曲的情况下方可使用一阶模型。如果实验得出的中心点的值与计算值有差异（如拟合不好），那这个响应面就是弯曲的，要用二阶设计和模型。

（3）实验者需要测试在这个模型里的二因素间的交互作用项。若交互作用看似比较重要，那么他就要确保妥善地识别它们。

3. 二阶模型的统计学实验设计

3.1 中心组合设计（Box-Wilson 设计）

这是最常用在响应面上的设计。它是析因与轴向设计的结合[3,10]，其中实验是在沿着轴线的 $\pm\alpha$ 距离处进行的（这就是其名字由来）。这需要相对大量的实验，如果条件有限的话这就成了它的缺陷。不过，它可以分两阶段进行：

先进行析因设计，如果结果符合要求，再进行轴向设计。

如果我们希望通过在兴趣点周围改变参数来考察这个系统的话，此时域是球形的，且轴向设计的坐标在析因设计的坐标外。在 2 和约 2.4 间选用 α 以给出最好的统计特性（如恒定的预测准确度）。当 α 被设为 1.682 时的三因素设计如图 5 和表 4 所示。

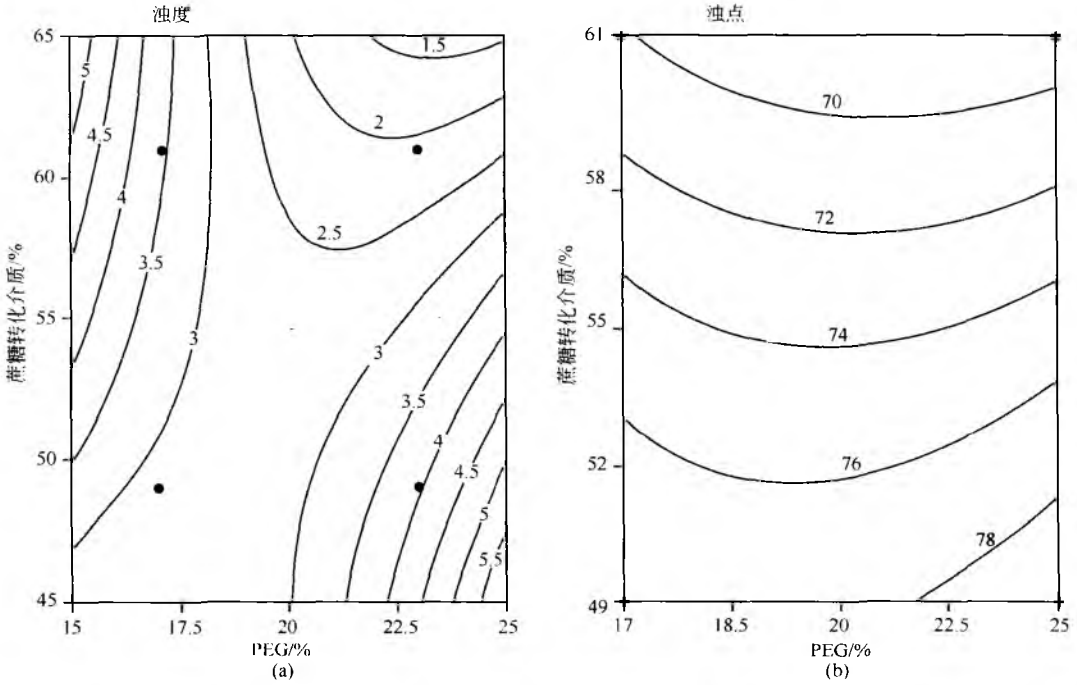


图 5　浊度[(a)]和浊点[(b)]的等高线图。PEG 百分数与蔗糖转化介质百分数的函数关系
(以恒定值为 4.3%，聚山梨酯-80 时的高等线图)

表 4　三因素的中心组合设计

序号	X_1	X_2	X_3	
1	−1	−1	−1	析因设计 2^3
2	+1	−1	−1	
3	−1	+1	−1	
4	+1	+1	−1	
5	−1	−1	+1	
6	+1	−1	+1	
7	−1	+1	+1	
8	+1	+1	+1	
9	−1.682	0	0	轴向设计
10	+1.682	0	0	
11	0	1.682	0	
12	0	+1.682	0	
13	0	0	−1.682	
14	0	0	+1.682	
15	0	0	0	中心点[1]（重复次数可变）
16	0	0	0	
17	0	0	0	

1）如果分别进行，可包含在轴向设计和析因设计中。

作为两个阶段的一部分中点实验必须完成。另一个优点是每因素皆有五个水平，这样能测试拟合缺陷和此模型是否可能需要立方项。

图 4 显示了从 Senderak 等[11]用此设计在第三个因素为常量时获得的数据计算得出的响应面。

3.2　其他标准设计

中心组合设计是最常用的，不过，也有其他方式，它们的特性使它们显得尤其有用。其中之一就是 Doehlert 设计，它是一个连续的六边形网络的一部分[12]，需要的实验量稍少于中心组合设计，但是它不能通过扩展析因设计而建立起来。

表 5 显示了三因素的此类设计。可见头七行和头两列是两因素的六边形设计。这样，向一个设计里加入一个因素是可行的。另外一个优势是因为它们是一个连续网络中的一部分，它可以通过增加一边上的和减少另一边上的实验的让实验域向任何方向转移（图 6）。Vojnovic 等[13]给出了一个在制粒过程中应用它的例子。

混合设计是饱和的或者接近饱和的设计，即它们仅有足够的预实验来计算二次模型的系数（3 个因素进行 10 次预实验，4 个因素进行 16 次，6 个因素进行 28 次）。尽管此时响应不会有太大变化，但二次方程是必要的，而且在资源（在可能的实验的数目内）较少的情况下它们非常有用[6,14]。

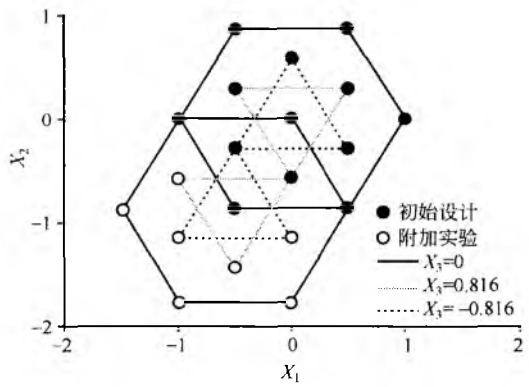


图 6 三维（因素）Doehlert 设计中扩展为新的实验域

表 5 三因素 Doehlert 设计

k	X_1	X_2	X_3
1	0	0	0
2	1	0	0
3	0.5	0.866	0
4	−0.5	−0.866	0
5	0.5	−0.866	0
6	−0.5	0.866	0
7	−1	0	0
8	0.5	0.289	0.816
9	−0.5	0.289	0.816
10	0	0.577	0.816
11	0.5	−0.289	−0.816
12	−0.5	−0.289	−0.816
13	0	0.577	−0.816

如果实验范围被各因素的最大和最小值限定了的话，那么这个实验域就是“立方的”。中心组合设计可以应用到这种情况里，这样轴点可以设在±1，代表最大和最小允许值的代码变量。其他用于立方域的设计在文献［6］内有回顾。

4. 混合和不规则域 D 最优化设计

如果实验域是立方和球形或者球形，一般可以使用标准实验设计。不过，实验域可能因为从技术的角度考虑一些特定的变量值的组合无法计入在内而有一个不规则的外形，甚至只能通过不断实验和失败而得出结果，或者特定因素可能会被迫采用固定离散而非数值甚至可能是定性的结果。

这种情况下还不存在经典的实验设计，需要一个单纯依靠经验的途径：①设定一个能够用来描述这种响应的数学模型；②从这么多可能的实验里选择一个能够用最大的效率测定出模型系数的设计。

要得到这样的一个设计有很多不同的方法，迄今为止最常用的是建立在 Fedorov 互换计算法则上的。也有一些来评价设计优劣的标准，D 最优化标准是最常用的，它建立在对此模型系数估算的总体准确性的最优化上[6,15,16]。这个方式和这种设计极为灵活，因为：

（1）它允许了在不规则实验域内进行实验；

（2）以往在实验域内进行的实验可以被考虑在内；

（3）实验不能给出结果的一些经典设计可以通过重新定义域和找出最优的实验（通过 D 最优化标准）来代替失败实验而进行弥补；

（4）这个模型可能是缺少系数的多项式，或者甚至是非多项式；

（5）随着模型复杂性不断增加，实验可以分两阶段或多阶段进行；

（6）进一步的实验也可以加入到一个 D 最优化设计里来验证这个模型（适用性不佳）；

（7）此外，它们可以用在有限制条件的混合模型里。

总体来说，有很多不同种类的实验设计可供选择，按照有疑问的问题来选择设计，而不是让实验来适应设计。

处方优化的实验设计（混合设计）

处方几乎总是由药物和辅料的混合物组成，其特性往往不是完全由各物质的量，而是由它们所占的比重来决定的。总数加合是 100%，这样独立变量数比成分数少一个。这种情况产生的结果就是模型和设计具有独特的性质，而且上面提到的设计（筛选、因素考察和响应面）通常不能使用。Cornell 全面地描述了混合实验的问题[17]。

1. 混合物的数学模型

因为独立变量数比成分数少 1，多项式有一个独特的形式。例如，3 个成分的话，响应 y 对分数 x_1、x_2、x_3 有一个一阶相关的关系，因为 $x_1+x_2+x_3=1$。

$$y = \alpha_0 + \alpha_1 x_1 + \alpha_2 x_2 + \alpha_3 x_3 + \varepsilon$$

变成

$$y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \varepsilon$$

变量也不能独立地被改变。如果成分比重没有上下限，3 因素的域可以描述为一个等边三角形，它的各尖代表各纯成分。四成分混合物被描述成一个正四面体。当五个成分时，需要想象出一个等同的四维图形。

就像一阶的混合模型和独立变量的模型形式不同一样，二阶设计也是：

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \varepsilon$$

特殊立方模型描述一个特定的响应面的三阶曲面：

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 + \varepsilon$$

2. 混合设计和单纯形实验域

上文中，描述了等边三角形和正四边形为混合物的域，这个顾及其内所有可能的成分组合的域是规则的单纯形（在下文中称为单纯形）。没有成分限制的情况在处方里较少。不过，如果各成分以最低水平出现，而且没有施加其他限制，那么这个域也是一个单纯形。

这类设计主要归功于 Scheffé[18]，使得它被很简单地推导出来。如图 7 所示，是一个三种组分的，适合一阶、二阶、部分三阶模型的设计。后者是中心组和设计，应用很广泛。图中也展示了模型拟合的测试点。

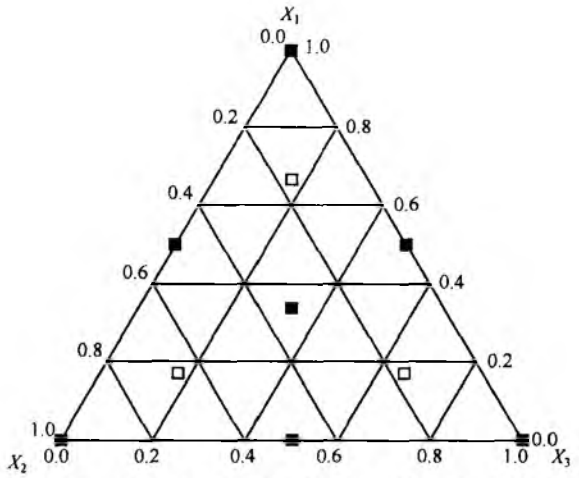


图 7 Scheffé 三因素中心组合设计。□ 测试点；■ 设计点。

3. 限制系统和伪组分

单纯形设计应用很少，因为在配方中，很少会出现没有成分限制的情况。不过，如果各成分以最低水平出现，而且没有施加其他约束，那么这个域也是一个单纯形。可以拿测试一个药物在药学上可以接受的三元或四元溶剂混合物中的溶解度作例子。唯一的一个限制可能是至少需要百分之多少的水。任何情况下，实验域是一个规则的单纯形，可以采用标准设计。在固体剂型里，单纯形域也很少见。一个可能的例子也许是对稀释剂在一个药片中最优成分比重的研究，有效成分和其他辅料的比重恒定不变。稀释剂可能是由乳糖、微晶纤维素和淀粉组成，其配方可加以调整来得到最优的压片特性，以及快速的崩解和溶解（患者服下这个药片后能快速地起作用）。再一次，像单纯形图心设计这样的标准实验设计可能会用到。

4. 限制系统与非单纯形设计

辅料的量的限制通常会导致一个不规则形状的域。而各成分必须出现在指定的浓度范围内来实现它的作用。例如，胶囊或者药片可能大部分都由乳糖还有淀粉组成，而硬脂酸镁限制在 0.5%～2%。尤其是，当有最高和最低限制的时候，这个空间通常总是非单纯形的。

混合物模型（就像 Scheffé 所描述的那样）也同样是有用的，特别是当有三个或更多这样有相对较大的变化区间的辅料。在固体处方里，这些辅料通常是稀释剂（或者填充剂），还有用来使控释片浸入液体时（如在肠胃里）药物缓慢扩散的聚合物或者蜡骨架。

非单纯形实验域的实验设计是给选定模型的 D 最优化，通过交换算法得到[19]。

这样，我们有最优化缓释片的例子，水溶性药物的释放速度受其通过骨架进行扩散的速度的限制。骨架形成物是一种遇水膨胀的纤维素衍生物（羟丙甲基纤维素），但是稀释剂微晶纤维素、乳糖、磷酸钙也一样有作用。这四种成分，以及药品的百分比（片重不变时有两个不同剂量），而且还有定义的实验域都是变化的。从而得到一个用于二阶混合物模型的 D 最优化设计（采用交换算法），进行实验，用多元线形回归对结果进行分析，用等高线图给出一个响应面（图 8）。因此，这个处方可进行优化而给出一个所需的药物释放曲线[6]。

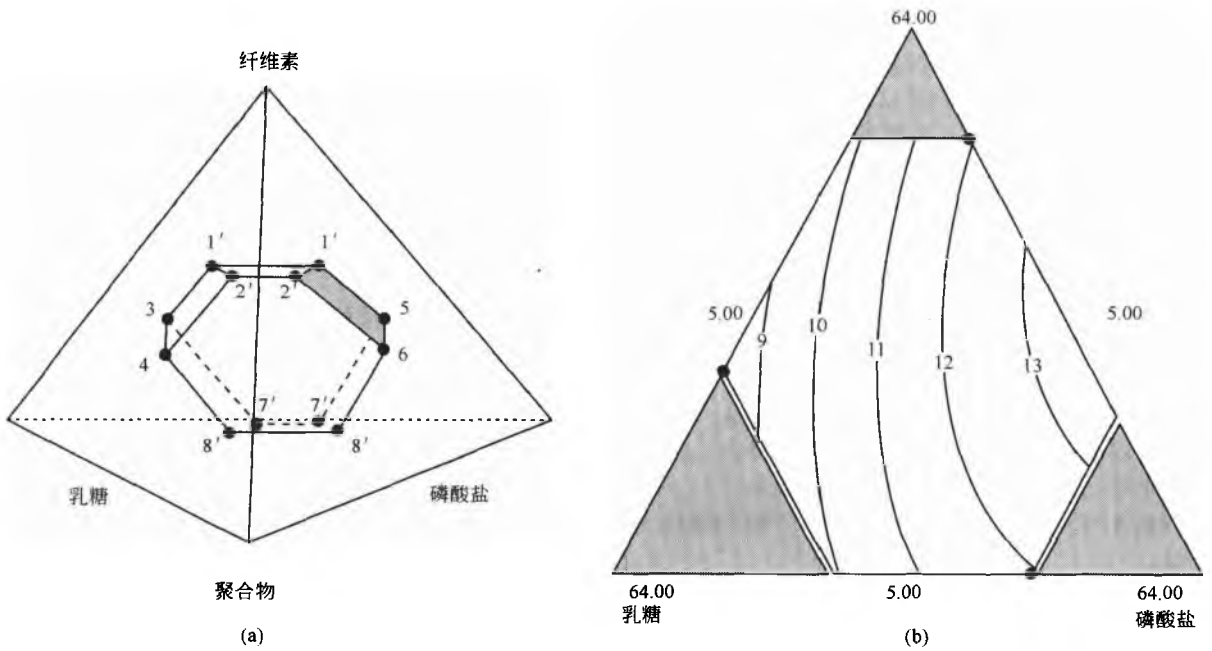


图 8 D 优化混合设计。(a) 定义设计空间；(b) 25%聚合物用量时平均溶出时间的等高线图

值得注意的是这个工作可以分两步进行。起初，从筹划好的二阶设计中选择实验建立一阶数学模型。首先进行这些工作以便检查是否存在问题以及实验域是否足够，再进行其他可以用于最优化的预测模型的实验。

5. 独立变量设计的条件

如果一种成分（如一个稀释剂或者溶剂）较过量，而且给其他成分的限定相对比较窄，那么这个成分就可以从分析中剔除出去，因为它的浓度不怎么变化。余下成分的浓度可以当作独立变量处理，可以使用此前描述的办法，而不需要对混合物做特别的考虑。

使用响应曲面法的最优化方法

1. 作图法

通常来说，当模型方程的系数已经被估算出来，给一个不依赖于多于四个因素的单一响应找到最优条件是比较简单的，当然，模型是正确的情况下。真正的问题通常比较复杂。在小丸成型的例子中，重要的不只是小丸的产量而是它们的形状（接近圆形的程度），还有易碎性、光滑度和生产难度。最优化是对所有这些因素的综合考虑。

一个可行的途径是选择最重要的响应，一定要最优化的响应，如小丸得率。而余下的响应，我们可以选择能够接受的上下限，只在这些限制内做出响应曲面，将不能接受的值遮盖住，而没有遮住的区域就是可接受区域。在可接受区域里，我们或可选择中心作为这个配方或者工艺的最佳区域，或可寻找一个关键响应的最大（或最小，或目标）值。

2. 两个对立响应的图形最优化

当只有两个独立因素（包括三个混合组分的例子），响应可以在一个图表上画出。作图软件可以画出高于或低于限制的响应，和响应处于限制区域以外被遮住的图形，这些都是很有用的，因为它们可以使可接受区域很快地识别出来。图 9 显示了一个口服溶液处方的图形分析的例子[11]。目的是要尽可能减少浑浊度，让溶液的浊点低于70℃。而且转化蔗糖的水平越高越好（消除浊点的不良影响）。聚乙二醇和蔗糖（X_2，X_3）在不同的聚山梨酯-80 水平上取截面，图 9 为 4.3%的情况。这个可以与图 5 的响应面进行比较。找到一个最优的权衡配方，即大概 58%蔗糖转化介质、4.3%聚山梨酯-80 和 23%聚乙二醇。

有四个独立连续因素时，这个方法就难以使用，而当有五个或者更多变量的时候，不管这个方法有多简单，它也是完全不实用的。要检查的“截面”数量实在太多了——多到要呈现和画出 125 个图表。在这种情况下，必须要运用需求度的方法。

3. 需求度

Derringer 和 Suich[6,20]描述了一种办法，可以克服由多

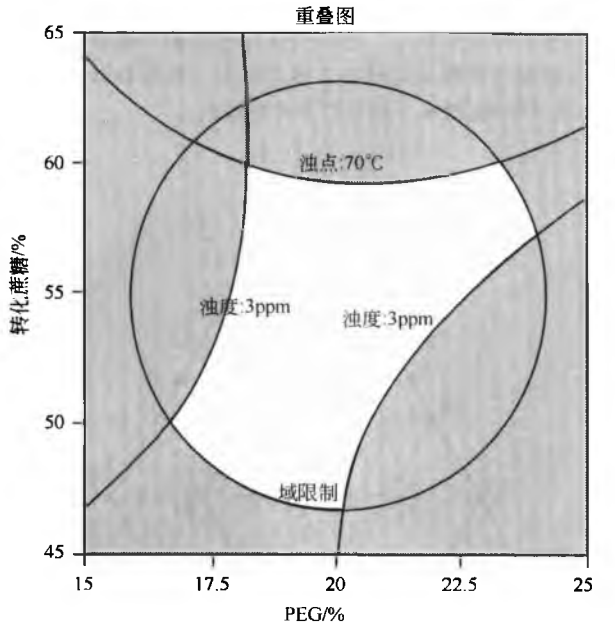


图 9 浊度＜3ppm 和浊点＜70℃的等高线图的重叠图，用于确定优化区域。在聚山梨酯-80 为 4.3%时的截面图

重的、有时是对立的响应而带来的困难。各响应与它自己的部分需求函数相关。如果响应的值是最优的，它的需求度就等于 1，如果它完全不能被接受的话，它的需求度就等于 0。这样，每个响应的需求度可以在实验域的指定点计算出来。一个总体的需求度可以由将所有 r 部分函数相乘然后取第 r 次方根得出。显然，如果一个点上任何一个响应的需求度为零的话，在此处的总体需求度即为零。最优点就是需求度的值最高的点。实验者应考察最优点附近的需求度面的等高线图，然后将其与最重要响应的等高线图结合。一个很大面积或者体积的高需求度象征一个合理配方或者工艺条件。

一些不同形式，如线形、凸面、凹面、单面、双面，可以应用到响应值对部分需求的依赖性上。给响应加权重也同样是可行的，这个方法需要合适的计算机软件，不过它是一个非常强大的最优化办法，而且经过练习以后，这个方法还是比较简单的。它特别适宜于四个或更多的因素。McLeod 等给出了一个例子[21]。

4. 响应曲面法的限制

使用数学模型来预测性地描绘响应，然后用这个模型进行最优化的方法只限于那些相对比较简单的例子，正规的二次方程模型足够准确地描绘出在最优区域里的现象。当不是这种情况的时候，一种可行的办法就是缩小域的大小。另一种办法是使用一个更复杂的模型或一个更适用于问题中的现象的非多项式模型。和所有改变实验区间和数学模型的例子一样，D 最优化设计和交换算法在这里是有用的。任何情况下，响应面方法学在最优化中只可以适用于连续函数。

最近，在许多领域里使用的人工神经网络引起了人们很大的兴趣。其中包括预测和专家系统，用它们描述一个与因素变量间呈非线性关系的响应曲面引起了人们的兴趣[22,23]。在这种情况下响应曲面可能更符合数据，比使用最小平方回归估算的模型计算出来的还要理想[24]。

不过，试验的选择在人工神经网络途径里依然重要，而且最好是按一个固定规律选择。中心组合设计，其中各因素有五个水平，通常是一个比较好的折中产物[24]。要非常注意不要“过度拟合”，而且，通常来说，需要的实验比经典的 RSM（响应曲面法）途径要多。

寻找一个新的域

1. 最陡上升法和最优路径法

筛选和因素考察有时能指示我们能否在研究域内找到最优点，还有若是可以的话，在研究域中的哪个位置能找到最优点。但是，如果最优点（我们在这里考虑单一“关键”变量）在现在的实验外，那么最陡上升法就展示出它的独特作用了。确定代码变量表示的最陡上升的方向，然后实验沿这条线进行。如果在这条线上找到一个最大或最小值（根据目标），发现它的那个点可以作为一个用于最优化的新的实验设计的中心[7]。最优化路径法[6,13]与其相似，而且用于从一个二阶设计中沿着一个曲线轨迹外推。

2. 连续单纯形最优化

2.1 简介

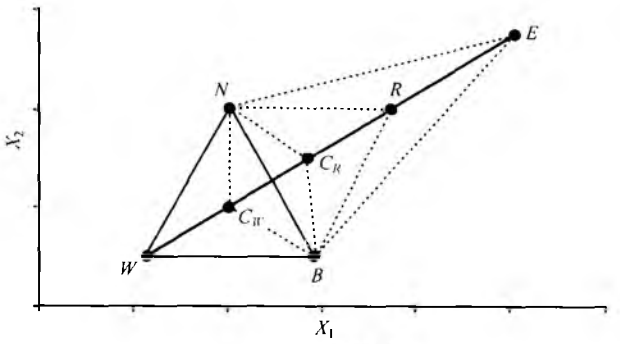
不同于这里提到的其他的最优化方法，用于最优化的连续单纯形法并不能给被研究现象假定或确定一个数学模型。

一个单纯形是一个在 k 维空间中，$k+1$ 非平面制高点在 k 维区域里连成的凸面几何图形，维的数目与独立因素的数目相关。这样，如果是两个因素的话，它是一个三边形，而三个因素，它就是一个四面体。这个方法是连续的，因为实验是逐一按序进行和分析的。基本办法使用一个恒定的步幅大小[25]，允许实验区域按一个恒定的速度移向最优点。不过，由 Nelder 和 Mead[26]在 1965 年提出的改进版允许单纯形扩张和收缩，该法更经常用到。Waters 最近综述了这种办法[27]。

2.2 延展单纯形法的最优化

假设我们想要优化一个依赖三个或五个因素的响应，除了域是连续的外，并不为这种域假设任何模型。我们选择一个起始域，然后在其中放一个规则单纯形。然后进行这个起始单纯形的试验，测试出它的响应。在这个基本的单纯形方法里，让实验在单纯形外，沿着一个远离单纯形的“最差”点的方向进行。最差点被丢弃，得到一个新的单纯形，这个过程重复进行。这样单纯形就会远离“差”的区域而靠近最优点。在这个延展单纯形法里，如果最优点在起始实验域外，在延展这个单纯形至一个改良的响应的区域的时候，我们可以很快离开它（起始实验域）。当单纯形到达最优点的时候，它会很快地缩小。

在一个给定的单纯形实验中，将 W、N 和 B 作为起始单纯形的“最差”（W）、“次差”（N）和“最佳”（B）点。在 W 点相反方向进行一个新的实验 R，新实验与原实验互为映像。取决于 R 点相对于在 W、N 和 B 点的响应值，步幅大小也可以扩展而快速到达最优的区域，然后在最优点周围缩小。两个因素的各种可能性如图 10 所示。“$R>W$”表示 R 点优于 W 点等。



R 取代	W	若：	$N \leqslant R \leqslant B$	相反
		或：	$R>B$ 和 $E \leqslant B$	
E 取代	W	若：	$R>B$ 和 $E \leqslant B$	扩展
C_R 取代	W	若：	$W<R \leqslant N$	收缩（外部）
C_W 取代	W	若：	$W>R$	收缩（内部）

图 10 Nelder 和 Mead 延展单纯形法的总结

在连续单纯形的最后，如果需要更细致的信息，实验者可以在假定的最优点附近进行一个响应曲面考察。

设计合理工艺和处方

直到现在，最优化和改进被认为是等于或者更接近于平均响应的最需要的方法。不过，要确保所有批量里面的所有单位都严格按照规范进行。除测量方法引起的误差外，所有误差都会存在于生产工艺、生产和储存环境中。

使用传统的品质控制法，任何符合规范的产品将会通过而且被认为品质同等的优秀。不过，一般认为响应越接近目标，这个产品越优良。这样，重要的是选择一个处方和（或）条件，不但能给出尽可能接近目标的产品，而且还要它们间差别尽可能小。

这个领域的基本理念和开创工作是由 Taguchi[28]完成的，他指出任何产品当它的表现特性和目标值有差别的时候其品质就有损失。他进一步将因素归类为：①控制因素，即可以在通常的操作条件下控制；②噪声因素，即难以控制、不能控制或者控制起来非常昂贵。

Z

控制和噪声因素的影响和联系可以通过一个实验设计的平均数测试出来，然后测定控制因素的设定，从而也能将噪声因素最小化。

在这个方法里有一个问题，除控制噪声因素的难度外，还要知道它们是什么。可能的噪声因素的例子是药物和辅料批次、周围的温度和湿度、使用的机器、准确的成粒时间，还有加液的速度。

很多情况下最简单的途径是设置一个控制因素下的实验设计，然后不断重复实验，希望噪声因素有足够的自然误差，从而能够找到一个可以最小化误差的条件。这需要大量的实验，但有时这是唯一可行的办法。

Taguchi 的解决方法是人为地改变噪声因素[28]。一个设计在控制因素下被设定好，另一个（析因）设计在噪声因素下，然后两者相乘在一起。这样噪声因素下变化的影响可以在各点被评估，而且误差被最小化。这个方法更优于前面那种方法，不过虽然如此，使用 Taguchi 的“正交网络”需要的实验数非常大。现在更常用的是设定一个设计，其中实验的数目尽管还是很高，不过已经通过寻找实验区域而最小化了[29~31]，在这个实验区域里，响应值等于目标值，而且同时对噪声因素不敏感。此设计必须允许噪声因素间的交互作用，不仅是控制因素本身，而且最好是控制因素模型里的所有项间的交互作用。

需要注意的是有大量的信息隐藏在大的析因设计里（$n=16$）。当分析显示只有很少一些因素是重要的，可以分析剩余部分（计算和测量值间的差别）[32]。与其他条件相比，在特定条件下剩余部分分布小，可能表明在这些条件下工艺和处方的重现性更好。在 Menon 等[8]的例子里介绍了一个这种方法在药学中的应用实例。

参考文献

1. Fisher, R. A. The Design of Experiments; Oliver and Boyd: London, 1926.
2. Plackett, R. L.; Burman, J. P. The Design of Optimum Multifactorial Experiments. Biometrica 1946, 33, 305－325.
3. Box, G. E. P.; Wilson, K. B. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. J. Royal Stat. Soc. Ser. B 1951, 13, 1－45.
4. Myers, R. H. Response Surface Methodology-Current Status and Future Directions. J. Qual. Technol. 1999, 31 (1), 30－44.
5. Montgomery, D. C. Design and Analysis of Experiments; 2nd Ed.; Wiley: New York, 1984.
6. Lewis, G. A.; Mathieu, D.; Phan-Tan-Luu, R. Pharmaceutical Experimental Design; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1999.
7. Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S. Statistics for Experimenters; Wiley: New York, 1978.
8. Menon, A.; Dhodi, N.; Mandella, W.; Chakrabarti, S. Identifying Fluid-Bed Parameters Affecting Product Variability. Int. J. Pharm. 1996, 140 (2), 207－218.
9. Carlson, R.; Nordahl, A.; Barth, T.; Myklebust, R. An Approach to Evaluating Screening Experiments when Several Responses are Measured. Chemom. Intell. Lab. Syst. 1992, 12, 237－255.
10. Box, G. E. P.; Draper, N. R. Empirical Model-Building and Response Surface Analysis; Wiley: New York, 1987.
11. Senderak, E.; Bonsignore, H.; Mungan, D. Response Surface Methodology as an Approach to the Optimization of an Oral Solution. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993, 19, 405－424.
12. Doehlert, D. H. Uniform Shell Designs. Appl. Stat. 1970, 19, 231－239.
13. Vojnovic, D.; Rupena, P.; Moneghini, M.; Rubessa, F.; Coslovich, S.; Phan-Tan-Luu, R.; Sergent, M. Experimental Research Methodology Applied to Wet Pelletization in a High-Shear Mixer. Part 1. S. T. P. Pharma Sci. 1993, 3, 130－135.
14. Roquemore, K. G. Hybrid Designs for Quadratic Response Surfaces. Technometrics 1976, 18, 419－424.
15. de Aguiar, P. F.; Bourguignon, B.; Khots, M. S.; Massart, D. L.; Phan-Tan-Luu, R. D-optimal Designs. Chemom. Intell. Lab. Syst. 1995, 30, 199－210.
16. Atkinson, A. C. The Usefulness of Optimum Experimental Designs. J. Royal Stat. Soc. Ser. B. 1996, 58 (1), 58－76.
17. Cornell, J. A. Experiments with Mixtures; 2nd Ed.; J. Wiley: New York, 1990.
18. Scheffé, H. Experiments with Mixtures. J. Royal Statist. Soc. Ser. B 1958, 20, 344－360.
19. Snee, R. D. Computer-Aided Design of Experiments－Some Practical Examples. J. Qual. Technol. 1985, 17 (4), 222－236.
20. Derringer, G.; Suich, R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. J. Qual. Technol. 1980, 12, 214－219.
21. McLeod, A. D.; Lam, F. C.; Gupta, P. K.; Hung, C. T. Optimized Synthesis of Polyglutaraldehyde Nanoparticles Using Central Composite Design. J. Pharm. Sci. 1988, 77, 704－710.
22. Bourquin, J.; Schmidli, H.; van Hoogevest, P.; Leuenberger, H. Basic Concepts of Artificial Neural Networks (ANN) Modeling in the Application to Pharmaceutical Development. Pharm. Dev. Technol. 1997, 2 (2), 95－109.
23. Bourquin, J.; Schmidli, H.; van Hoogevest, P.; Leuenberger, H. Application of Artificial Neural Networks (ANN) in the Development of Solid Dosage Forms. Pharm. Dev. Technol. 1997, 2 (2), 111－121.

24. Takahara, J.; Takayama, K.; Nagai, T. Multi-Objective Simultaneous Optimization Technique Based on an Artificial Neural Network in Sustained Release Formulations. J. Control. Rel. 1997, 49 (1), 11—20.
25. Spendley, W.; Hext, G. R.; Himsworth, F. R. Sequential Application of Simplex Designs in Optimization and Evolutionary Operation. Technometrics 1962, 4, 441.
26. Nelder, J. A.; Mead, R. A Simplex Method for Function Minimization. Comput. J. 1965, 1, 308.
27. Walters, F. Sequential Simplex Optimization—An Update. Anal. Lett. 1999, 32 (2), 193.
28. Taguchi, G. System of Experimental Design: Engineering Methods to Optimize Quality and Minimize Cost, UNIPUB/Fraus International White Plain, 1987.
29. Nair, V. Taguchi's Parameter Design: A Panel Discussion. Technometrics 1992, 34, 127—161.
30. Shoemaker, A. C.; Kwok, L.; Wu, C. F. J. Economical Experimentation Methods for Robust Design. Technometrics 1991, 33 (4), 415—427.
31. Montgomery, D. C. Using Fractional Factorial Designs for Robust Process Development. Qual. Eng. 1990, 3, 193—205.
32. Box, G. E. P.; Meyer, R. D. Dispersion Effects from Fractional Designs. Technometrics 1986, 28, 19—27.
33. Anderson, V. L.; McLean, R. A. Design of Experiments: A Realistic Approach; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1974.
34. Haaland, P. D. Experimental Design in Biotechnology; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1989.
35. Myers, R. H.; Montgomery, D. C. Response Surface Methodology; Wiley-Interscience: New York, 1995.
36. Grove, D. M.; Davis, T. P. Engineering Quality and Experimental Design; Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, 1992.
37. Schmidt, S. R.; Launsby, R. L. Understanding Industrial Designed Experiments, 3rd Ed.; Air Academic Press: Colorado Springs, 1993.

（魏 刚 译）

Z

Z

作为药物载体的可生物降解聚合物

Peter Markland
Southern Research Institute, Birmingham, Alabama, U. S. A.
Victor C. Yang
The University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, U. S. A.

引言

在寻找可生物降解缝合线材料的过程中，开发了第一个聚合物，已经证明这种聚合物可成功地用于长效给药系统。由于可生物降解聚合物在体内降解成生物惰性且生物相容的分子，作为长效的药物输送载体是非常合适的。将载药的可生物降解聚合物制成具有不同形状和大小的剂型，从而延长了药物的释放时间。因为肌体可以降解和清除残留的聚合物，在给完药后聚合物载体无须再次手术取出。因此，可生物降解聚合物为开发缓释给药系统提供了一种新途径，这种给药系统对于患者来说既简单又方便。

虽然有许多具有这些用途的不同化学性质的可生物降解聚合物，但是最常用、最成功的还是聚酯，它最初是作为可降解缝合线。这些聚合物包括聚乙交酯 [poly (glycolide)]、聚 D，L-丙交酯 [poly (D，L-lactide)] 以及它们相应的共聚物 [poly (D，L-lactide-co-glycolide)]。现在市场上有许多用这些材料制成的商品，包括 Decapeptyl®、Lupron Depot® 和 Sandostatin LAR®。在传统的储库型注射剂中，可生物降解聚合物只是简单地作为惰性载体，可以用不同方法方便地将药物混入聚合物骨架中制成各种剂型。然而有效的新药输送，包括多肽、蛋白质、基因药物和细胞药物，对聚合物性能有更高的要求。为了制备更合适的剂型以提高药物的转运和疗效，必须研究新型的聚合物和新型制剂。

介绍

为了延长药物的释放时间，进而提高人体的生物利用度，现已开发了多种药物输送系统，包括透皮贴片、口服制剂如渗透泵和溶胀型亲水性骨架以及各种基于聚合物的储库型注射剂[1,2]。储库型缓释制剂能克服口服和透皮给药途径的一些局限，这些局限包括胃肠道中药物稳定性差、穿过胃肠道黏膜或角质层时药物通透性低，还有因首过效应造成的药物被快速清除以及超过数天的药物输送需求。目前已经成功开发了许多储库型注射给药系统。根据聚合物的性质，这些给药系统可以分为可降解的和不可降解的两种。

Wyeth-Ayerst 公司的 Norplant® 是一种不可降解的药物输送系统[3]，它可以成功避孕达 5 年之久。这个输送系统由 6 个封闭的二甲基硅烷和甲基乙烯基硅烷共聚物 (Silastic®) 制成的硅橡胶小管组成，通过手术切开或套管针皮下植入，每管含黄体激素左炔诺孕酮 36mg。在药物释放完后，像这样的不可降解给药系统需要再次手术将其从体内取出。由于这样一个手术过程可能增加费用、产生并发症、引发感染，并且缺乏患者的依从性，所以不受欢迎。尽管 Norplant® 是一种安全经济的避孕方法[4]，但从 1994 年后该产品在美国的需求量急剧下降，下降的主要是因为披露了一些在临床使用中出现的问题，这些问题与取出植入棒操作困难有关[5]。

因此，在生理条件下能降解成生物相容组分的聚合物用于给药系统深受人们的关注。使用可生物降解聚合物避免了释药完成后需手术取出带来的不便，从而避免了由于使用不可降解给药系统而可能引起的并发症。降解有不同的机理，通常有聚合物的溶蚀和化学变化。溶蚀降解通常发生在由水溶性聚合物制成的给药装置中。当体系吸收水分后，引起聚合物分子链水化、溶胀、松弛，最后溶解，这样给药装置就逐渐被溶蚀掉了。另外，降解可能是由聚合物的化学变化引起的，如共价键的断裂，在聚合物骨架或在聚合物侧链上离子化或质子化。有许多关于降解方式的描述，这些方式说明了聚合物或聚合物-药物复合物是怎样利用化学降解实现药物释放的[6,7]。

研究最广泛的可生物降解聚合物是那些通过化学降解的聚合物，这种降解是组成聚合物链骨架的共价键的随机水解，任意链断裂都造成聚合物相对分子质量的减少。当降解过程随着时间连续进行时，聚合物分子链越来越短，到某一时候剂型的机械完整性就没有了。降解会一直进行直到聚合物碎片被降解成可溶性低聚物或单个的单体。作为此过程的一个必要条件，可生物降解聚合物及其降解产物必须是生物相容且无毒的，因此制备可生物降解聚合物时通常用生物体内源性分子作为单体。最常用的一类可生物降解聚合物是由乳酸、羟乙酸或它们的组合物制成的水解不稳定的聚酯。由这些单个单体制成的聚合物包括聚 D，L-丙交酯 (PLA)、聚乙交酯 (PGA) 和 D，L-丙交酯-乙交酯共聚物 (PLG)。

化学降解机制和溶蚀降解机制之间的区别是相对的，有时两种机制同时作用，导致给药系统的完全降解和再吸收。例如，谷氨酸和乙基谷氨酸的共聚物已用于研究镇痛拮抗剂纳曲酮的释放[8]。乙酯侧链的水解使共聚物转变成水溶性聚合物聚谷氨酸。随着水解的进行，当水溶性聚合

物链从给药装置中溶解掉，聚合物给药装置就逐渐溶蚀了。此外，还有许多其他的例子，剂型的最终降解和再吸收既包括化学降解也包括物理溶蚀。在这个意义上，像“可生物降解的”和“可生物溶蚀的”这样的术语在文献中有时可互换使用，而在有些时候用来指不同的降解过程。因此，在查阅文献解释这两个术语怎样使用时，应该加以注意。在某些情况下，“可生物降解”一词特指化学过程（改变聚合物相对分子质量和溶解性的化学变化），而“可生物溶蚀”则特指导致聚合物给药装置质量下降的物理过程。

历史

可生物降解聚合物在药物输送中的应用起源于寻找可降解缝合线聚合物。20 世纪 50 年代，开发的第一个合成的聚合物是聚乙交酯[9]，但由于水解稳定性差，不适合长期使用。但这种性质使其适合用作缝合线，在潮湿环境中它们能降解[10,11]。Dexon® 和 Vicryl® 缝合线分别是用聚乙交酯和丙交酯-乙交酯共聚物制成的[10,12]。这些材料作为可降解缝合线推动了它们在缓释制剂开发中的应用。1970 年 Yolles 等报道了用聚丙交酯生物降解系统输送麻醉拮抗剂环唑辛[13]。同时也有许多其他药物采用可生物降解制剂来输送，如抗癌药[14]、类固醇[15]和其他麻醉拮抗剂[16~18]。许多综述对该技术早期用于各种小分子药物的缓释进行了分类[19~21]。

最近，生物技术的发展已经筛选出许多有效和强效的蛋白质和基因大分子药物。然而，怎样用有效的方式将这些药物输送到体内，并且不牺牲患者的生活质量，一直是一个主要障碍。胃蛋白酶和胃肠道上皮细胞的低通透性使口服大分子药物生物利用度很差，因而这些药物通常以注射方式给药，如皮下注射、肌内注射或静脉注射。然而，这些药物的生物半衰期短，为了维持治疗的有效性则需要频繁地注射。尽管开发高价值药物的长效输送系统是非常必要的，但是该技术应用仍有各种障碍[22~24]。聚合体-药物的相互作用、工艺条件以及给药装置内部的 pH、温度和湿度都会导致药物的稳定性在从给药装置中释放出来之前难以保持。

尽管有这些复杂因素，但在蛋白质特别是具有生物活性多肽的可生物降解给药系统的开发中，已经取得了相当大的成就。在过去的十多年中，使用聚酯 PLA 及 PLG 的各种不同共聚物作为药物载体，大多数已经取得商业成功，尤其是已经将促黄体激素释放激素（LHRH）的合成类似物开发成许多可生物降解给药系统。例如，Sanders 等用丙交酯乙交酯单体摩尔比为 50∶50 的 PLG 制成的乙酸那法瑞林微球，药物释放超过 30d[25]。这种输送系统第一个上市的是 Ipsen Biotech 公司的 Decapeptyl®，它是治疗前列腺癌的微球制剂（图 1）[26]。它在 30d 内释放 LHRH 类似物 3.75mg。最近，TAP 制药公司上市了一系列 LHRH 类似物乙酸亮丙瑞林（leuprolide acetate）的微球制剂，商品名为 Lupron Depot®。目前由 PLG 或 PLA 制备的上市产品可以使多肽释放实现 1 个月、3 个月和 4 个月[3]。Lupron Depot® 可用于治疗子宫内膜异位[27]、前列腺癌[28]和儿童的性早熟[29]。

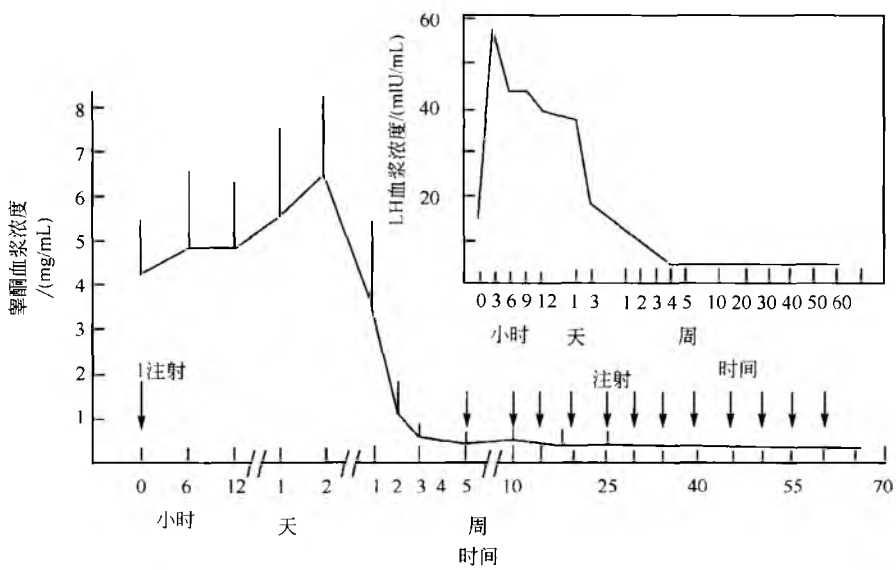


图 1 在每隔 5 周用生物降解储库制剂 Decapeptyl®（每剂量含 LHRH 3mg）22 名受试者的 LH 和睾酮血浆浓度[26]

和这些微球制剂相比，AstraZeneca 的 Zoladex® 是可植入的小圆柱体，直径约 1mm，长度约 10mm，乙酸戈舍瑞林就包裹在 50∶50PLG 的聚合物骨架中。该给药系统在 1 个月内释放大约 3.6mg 的药物，用于治疗前列腺癌。开发的第二个 Zoladex® 给药系统含乙酸戈舍瑞林 10.6mg，药物可释放达 3 个月[3]。

合成的生长激素类似物乙酸奥曲肽也已成功地制成 PLG 微球制剂。Novartis 公司的 Sandostatin LAR® 用于治

Z

疗肢端肥大症[30]，以及由转移的良性肿瘤引起的腹泻和潮红[31]。一个月给药一次的储库型制剂据报道有和奥曲肽溶液注射剂一样好的耐受性和有效性，而奥曲肽溶液注射剂需长期每天皮下注射 2～3 次（图 2）。这个例子充分地说明了可生物降解缓释制剂可以明显改善生活质量。

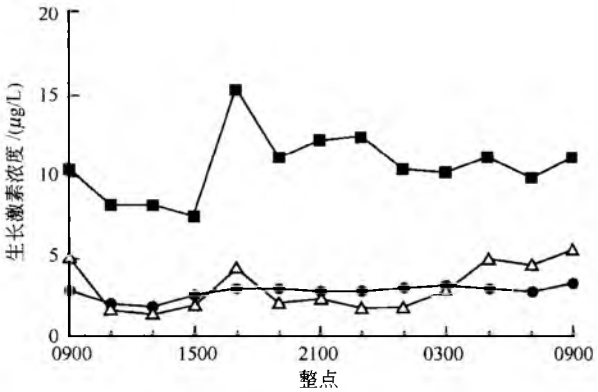


图 2 Sandostatin LAR 可生物降解储库制剂对人体平均血浆生长激素浓度的影响。第二次每月给予 Sandostatin LAR 20mg 后 28d；●24h 内的血浆浓度，■未治疗控制的血浆浓度，△病人每天多次皮下注射奥曲肽注射剂的血浆浓度

1999 年 12 月第一个蛋白质可生物降解储库制剂获得批准。Genentech 公司的 Nutropin Depot® 是含有基因重组人生长激素（rhGH）的 PLG 微球，其分子质量为 22 125Da。用不溶性锌-激素复合物制备微球可保持蛋白质的活性（图 3）[32]。

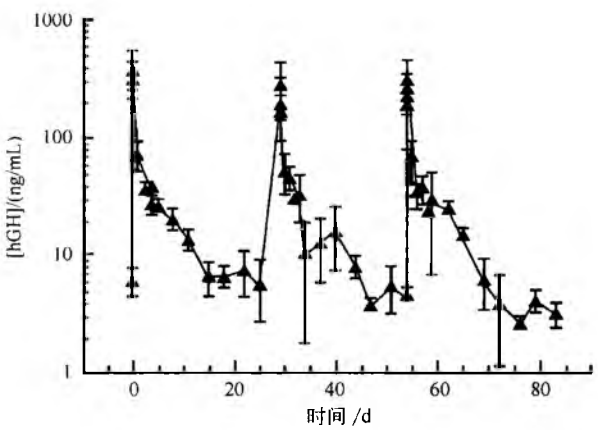


图 3 在免疫抑制大鼠中每月给予含 rhGH 7.5mg 的可生物降解储库制剂 3 次的血浆人生长激素浓度([hGH])

虽然开发了许多不同的聚合物作为药物输送载体，但除了聚酯以外只有一类聚合物被批准。Gliadel® 是在聚酸酐骨架中含有化疗药物卡氮芥（BCNU）的薄圆片。1996 年 Gliadel® 获得有条件的批准，在手术切除复发的胶质细胞瘤多形肿瘤（GBM）后作为辅助治疗[3]。

就商业开发而言，很明显聚酯受到官方认可意味着这些材料在该领域中占优势，但正在开发的用于药物输送载体的聚合物分很多类。在药物输送中为了克服生物利用度低或稳定性差的缺点，人们正努力开发新型的特制的高分子材料。此外，新的工艺技术有助于新剂型的设计，这些新剂型可以提高药物输送性能，扩大高分子材料在各种新的生物医学领域中的应用。

影响聚合物选择的因素

在可生物降解给药系统的应用中，已对合成聚合物和天然来源的聚合物进行了评价。表 1 列出了几类可生物降解聚合物。在选择可生物降解聚合物时，需要考虑许多聚合物的性质（表 2）。对于特定的用途最需要考虑的是法规上的要求。如果要求开发速度快并能很快上市，那么聚合物最可能是从那些已经获得批准的聚酯中进行选择。另一个要考虑的因素是选择均聚物还是共聚物，均聚物是由单个单体的重复单元组成的聚合物，而共聚物是由多个单体组成的聚合物。如果用共聚物，那么调节不同单体比例可以改变聚合物的性质。要注意聚合物的组成直接决定其理化性质，包括本体的亲水性、形态、结构及药物-聚合物相互作用程度，如药物在聚合物中的溶解性（表 2）。最后，这些性质都将通过改变物质转运速度（如水的渗入、溶质或药物从体系中溶出）以及聚合物和给药装置的降解速度来影响给药系统的性能。

表 1 可生物降解聚合物的常用类别及实例

类 型	类 别	实 例
合成的聚合物	聚酰胺	聚氨基酸，多肽
	聚酯	聚乙交酯
		聚 D，L-丙交酯
		D，L-丙交酯-乙交酯共聚物
		聚己内酯
		聚二氧环己酮
		聚羟基丁酸酯
	聚酸酐	
	聚原酸	
	聚膦腈	
	聚磷酸酯	聚磷酸酯
		聚膦酸酯
		聚亚磷酸酯
天然的聚合物	多糖	右旋糖酐
		脱乙酰壳多糖
		海藻酸盐
		淀粉
		透明质酸
	多肽，蛋白质	胶原
		明胶
		牛血清蛋白（BSA）
		人血清蛋白（HAS）

表 2 影响聚合物选择、制备和性能的聚合物性质

性 质	举 例
法规情况和毒理学情况	
单体或共聚物的组成	
相对分子质量	M_w，M_n
相对分子质量的分布	分散度（M_w/M_n）
分子结构	线形聚合物，支链聚合物，交联网络
立构规整度	等规立构，间规立构，无规立构
二级结构特征	螺旋形，β-结构
性状	无定形，半结晶型，结晶型
热力学转变温度	熔点温度 T_m，玻璃化转化温度 T_g
电离	侧链，主链的末端基团

除了聚合物的组成以外，聚合物的热力学性质也能影响物质的转运速度和聚合物的加工性能以及剂型的稳定性，通常聚合物的热力学性质用玻璃化转化温度（T_g）和熔点温度（T_m）来表示。在玻璃化转化温度以下，聚合物以无定形、玻璃态存在。当在玻璃化转化温度以上时，聚合物的自由体积增大，自由体积允许沿着聚合物骨架的局部部分分子链运动性增强。因此，在玻璃化转化温度以上聚合物中传质较快。通常像挤出或高速搅拌混合等聚合物加工都在玻璃化转化温度以上进行。另外，在聚合物给药装置的储存期间，在玻璃化转化温度以下保存其稳定性最好，这时聚合物中药物的扩散将相当慢，减小了在聚合物性质方面的细微变化（如黏度）。

残留溶剂或溶解的溶质（包括药物和其他添加剂）之类的增塑剂会降低聚合物的玻璃化转化温度。相反，某些阻碍聚合物链段运动的特性将会增加聚合物的玻璃化转化温度，如较高的链刚度、大的侧链基团以及环形结构。最后，聚合物上有荷电基团存在时可能影响药物从给药装置中释放，聚合物骨架、侧链基团或者聚合物链末端基团上电离基团的数量和密度，都可能改变聚合物-聚合物和聚合物-药物的相互作用程度。此时可电离的基团会影响药物在聚合物中的溶解度，相应的就会影响药物从聚合物中的释放。有许多综述详细地阐述了聚合物性质和用于药物输送的性能之间的关系[33,34]。

影响药物释放的因素

除了聚合物本身的理化性质，还有其他因素也会影响药物释放和剂型的性能特征。主要的因素见表 3。剂型可以有各种几何形状、物理形态和尺寸。根据所用聚合物的柔韧性、设想的给药途径、作用持续时间以及在工艺条件下药物的稳定性来进行适当地选择。此外，药物在制剂中可能是均匀地分散（骨架系统），也可能是非均匀地分散（储库系统）。最后，聚合物的降解速度和机理也可能影响药物的释放，并且可能影响给药后的药物稳定性。如果有必要的话，给药系统应该设计成这样：在聚合物降解开始影响剂型完整性之前，所包裹的药物就完全释放。相反，也可以设计一种剂型，聚合物降解和给药装置溶蚀均有助于药物释放。

表 3 影响性能的给药装置特性

性 质	特 征	举 例
给药装置的设计	形状/几何外形	圆柱形或棒状
		微粒（微球、微囊、纳米粒）
		膜或薄片
		黏性的凝胶或液体
	药物的分布	均匀的（基质系统）
		非均匀的（储库系统）
	制剂	载药
		辅料
		多孔性
降解	速率	
	机理	均一降解（整体）
		非均一降解（表面溶蚀）

基于上面的原因，人们开发了具有不同降解速度和机理的聚合物，但是用于给药系统的大部分聚合物的降解机理仍主要是水解。许多易水解的聚合物，像聚酯类的 PLA 和 PLG，都是通过聚合物给药装置整体的均匀随机水解而发生降解的，但人们已经尝试开发其他类型的聚合物，如聚酸酐和聚原酸酯，它们只在直接与水性环境接触的给药装置外表面发生水解。当这种所谓的表面溶蚀过程进行时，水解是以非均一的方式发生，聚合物给药装置从外向内发生降解。

储库型系统是将药物包裹在聚合物膜里面。在这种给药系统中，聚合物膜相当于一个屏障，药物释放受跨膜药物的 Fick 扩散控制，释放速度可以用下面的关系式表示：

$$\frac{dM_t}{dt} = \frac{ADC_s}{t_m} \quad (1)$$

式中：M_t 为在时间 t 时释放药物的量；A 为聚合物膜的表面积；D 为膜中药物的扩散系数；C_s 为聚合物中药物的溶解度；t_m 为膜的厚度[35]。只要储库中药物浓度远远大于饱和浓度，并且相对于给药装置的其他尺寸膜厚很小，只要释放是受扩散控制，那么这个关系式表明药物释放速度对时间是恒定的（零级释放）。因为可生物降解聚合物是化学不稳定的，所以通常不用它们来制备储库型药物输送系统。由于这些聚合物可能过早地降解，因此药物储库中残留药物的释放存在安全性问题。

因此，可生物降解聚合物通常用来制备骨架型给药系统，在该给药系统中药物均匀分散或溶解在整个聚合物骨架里。骨架型系统可制成多种形式，包括膜、薄片、圆柱形、棒状和微粒（微球、纳米球）。药物起初是从这些制剂暴露的外表面释放的，当这些部分的药物释放完后，随着释放的继续，离表面越来越深的内部药物从制剂的内部转运到表面，然后再释放出来。因为在释放过程中扩散的距离变得越来越长，从骨架型系统中扩散控制的释放就不再是零级释放了。根据薄片的几何外形，Higuchi 得到一个关

Z

系式，当微分后，这个关系式可以预测骨架型系统中扩散控制的释放[35]：

$$\frac{dM_t}{dt} = \frac{A}{2}\left(\frac{DS_s(2C_L - C_s)}{t}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

式中：A 为聚合物片的面积；C_L 为给药系统中药物的量；S_s 为药物在释放介质中的溶解度；其余变量和方程（1）中是相同的。假设聚合物降解不影响药物释放，这个关系式表明当扩散控制释放时，药物释放速度随着 $t^{-1/2}$ 成比例地下降。

定量检测从完整的骨架型给药系统中释放的药物，发现低相对分子质量的药物释放速率和以扩散控制机理释放药物的速率一致，而高相对分子质量的药物（像肽类和蛋白质），由于它们在聚合物中溶解度低、扩散速度慢，常常在聚合物中的渗透性差。因此，这些药物不可能纯粹靠扩散控制机理从骨架中释放出来。肽类和蛋白质类药物需要靠其他机理帮助其从骨架中将药物释放出来[36]。例如，通过持续的溶解和除去可溶性成分（如药物或其他制剂辅料）形成孔道，这些孔道可以加快肽类和蛋白质类药物从聚合物骨架中的释放。另外，也可以通过聚合物的降解以及由于降解造成的给药装置自身溶蚀来加快药物的释放。人们已经提出了许多数学模型，将整个释放过程的释放速度与聚合物降解和药物扩散的结果相关[20,37,38]。

在某些特殊情况下，人们开发了具有零级释药曲线的新型给药系统，制备了表面溶蚀型聚合物，这种聚合物只在给药装置外表面发生降解。当药物释放局限于聚合物发生降解的区域时，药物释放可能是恒定的。这样药物的释放速度可以由聚合物的降解来控制。Hopfenberg 建立了一种数学模型，只要在聚合物降解过程中表面积保持不变，就可以用这种模型来描述药物释放系统的类型[39]。在时间 t 累积的药物释放量可用式（3）表示：

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_0 t}{C_L a}\right)^n \quad (3)$$

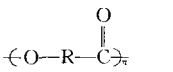
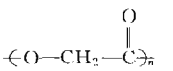
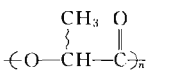
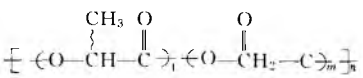
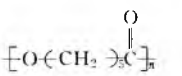
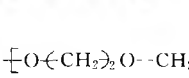
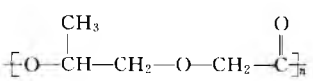
式中：k_0 为零级速率常数，表示聚合物的降解过程（表面溶蚀）；C_L 为整个体系中初始的载药量；a 是系统的半厚度（如球或圆柱的半径）；n 为指数，几何形状不同 n 取值不同（$n=1$ 表示平片，$n=2$ 表示圆柱形，$n=3$ 表示球形）[39]。

常用的可生物降解聚合物

1. 聚酯类

人们对应用于药物输送的许多种易水解的聚酯进行了评价，表 4 列举了一些例子。在这些聚合物中一般选择聚乙交酯、聚丙交酯以及它们的各种共聚物，这是因为它们是公认安全、无毒的，而且理化性质变化范围较宽，且易加工成各种剂型。它们由高纯度乙交酯和丙交酯单体通过阴离子开环聚合反应得到，乙交酯和丙交酯分别是羟基乙酸和乳酸的环状二聚体。在药用聚合物的合成中最常用的链引发剂是辛酸亚锡。由于丙交酯有两个手性碳，可以用 D-丙交酯（D-，D-环形二聚体）、L-丙交酯（L-，L-环形二聚体）或内消旋丙交酯（D-，L-环形二聚体）作为单体进行聚合反应。聚 D，L-丙交酯（PLA）的合成最常用的方法是用 D-丙交酯和 L-丙交酯的外消旋混合物进行共聚反应。D，L-丙交酯-乙交酯共聚物（PLG）的合成与聚丙交酯类似，用不同比例的乙交酯和 D-/L-丙交酯的外消旋混合物进行共聚制得。因为 PLA 和 PLG 是由不同类型的单体制得，所以聚合反应有可能导致聚合物中单体类型是有序排列的[21]。组成成分的非均一性可能导致聚合物批与批之间的性质差异。含有 50%乙交酯的 PLG 曾经出现过这样的问题。

表 4 常用聚酯结构

聚酯链接	
聚乙交酯，PGA	
聚 D，L-丙交酯，PLA	
D，L-丙交酯-乙交酯共聚物，PLG	
聚己内酯	
聚二氧环己酮	
聚羟基丁酸酯	

均聚物聚 D-丙交酯和聚 L-丙交酯可能是半结晶性的，因此水进入这些聚合物较慢。由于微晶体引起水分吸收慢以及结构完整，因此这些聚合物的降解速度也可能相对较慢（即 18～24 个月）[21]，而聚 D，L-丙交酯（PLA）是无定形的，降解速度则较快（即 12～16 个月）。PLA 中逐渐增加乙交酯的比例，降低玻璃化转化温度，增加了亲水性。当乙交酯的摩尔分数为 25%～70%时，PLG 仍是无定形的。乙交酯的摩尔分数为 50%的 PLG 共聚物降解速度最快（即 2 个月）。与无定形的 PLA 相比，尽管聚乙交酯是半结晶性的，但发现其降解速度相对较快，即 2～4 个月。尽管实际降解时间是根据外界条件、聚合物相对分子质量、体系的几何形状、外形以及加工工艺条件而定[21,40,41]，但这主要还是由于乙交酯比丙交酯更亲水。

在水性介质中聚合物与水接触并达到平衡后，整个聚合物给药装置通过均匀水解使聚酯发生降解。这一结论可以用聚合物给药装置的本体降解（用质量下降来表示）滞后于聚合物相对分子质量的下降来证明（图 4）。然而，有研究发现在某些条件下聚合物的水解降解是非均一降解。有报道用 PLA 或 75∶25PLG 之类的无定形聚酯制备的给

药装置在其内部表现出加速降解现象[42]。这是由于在降解过程中聚合物内部会形成酸性低聚物和单体的区域，在这些区域酸催化水解从而引起加速降解现象。在这种情况下，可能是聚合物给药装置的尺寸太大或者是没有孔道，这样酸性副产物不容易从给药装置内部被水带出来。另外，半结晶性聚合物（如聚乙交酯）的非均一降解首先发生在有水扩散进去的无定形区域。因此无定形区域先发生降解，剩余的多为结晶区，这一部分降解则较慢[43,44]。据报道由于在水解过程中聚合物片断结晶富含 L-丙交酯[43]，像 PLA 和 75∶25PLG 这类的无定形聚合物起初也发现有非均一降解现象。

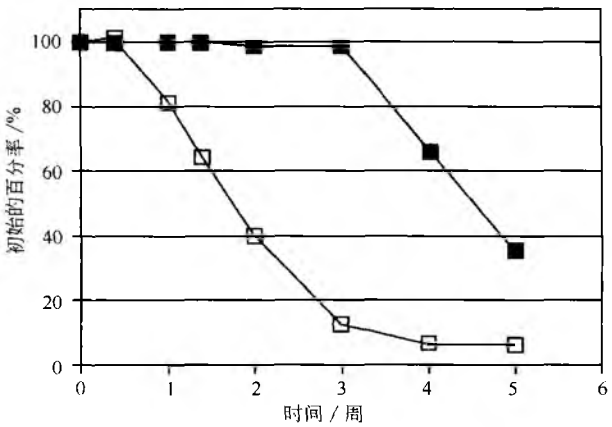


图 4　圆柱形 PLG 棒在 37℃ 水浴中的体外降解曲线降解用样品质量（■）和数均相对分子质量 M_n（□）的变化百分数表示

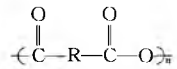
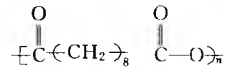
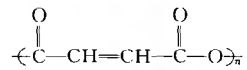
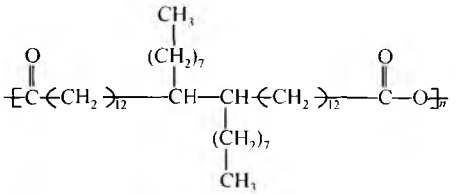
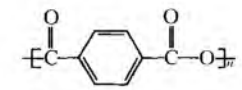
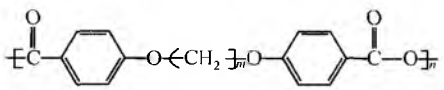
有许多描述以聚酯为骨架的可生物降解给药系统开发的综述已经发表[21,22,40,45]。人们做了大量的研究来评价聚酯材料在蛋白质[36]和疫苗[46]的输送中的应用。最近发现用新型化学和工程手段可以制备交联的水凝胶和三维多孔骨架，它们可以广泛地用于生物医药领域，包括蛋白质和基因的输送及细胞治疗。

2. 聚酸酐类

在 20 世纪前半叶，纺织行业曾开发聚酸酐作为一种替代纤维的材料[47,48]。然而不同于聚酯，现在的聚酸酐类是为药物输送而特别开发的一类新的生物降解聚合物。特别是这些聚酸酐专门用于制备表面溶蚀型制剂。

通常这些聚合物的酸酐键比聚酯键更易水解。为了达到表面溶蚀的目的，聚合物常用非常疏水的单体制备，这样是为了使水渗透进给药装置的程度最小。用这种方法可以限制不稳定的酸酐键的水解发生在聚合物给药装置的外表面。许多脂肪族的和芳香族的单体用于制备表面溶蚀型的聚酸酐（表 5）。脂肪族的聚酸酐常由二羧酸来制得，如己二酸、癸二酸（SA）、十二酸、富马酸（FA）。此外，也可用二元脂肪酸［脂肪酸二聚体（FAD）］制得。用芳香族单体制得的聚合物疏水性增加，芳香族单体有邻苯二甲酸和各种羧基苯氧基烷类（如 CPM、CPP、CPH）（表 5）。在合成高相对分子质量的聚酸酐时，首先用醋酐将二羧酸单体制成混合的酸酐预聚物，然后在熔融状态通过缩聚反应使预聚物发生聚合。

表 5　常用聚酸酐的结构

聚酸酐链接	
聚癸二酸，SA	
聚富马酸，FA	
聚芥酸二聚体或聚脂肪酸二聚体，FAD	
聚对苯二甲酸，TA（对位） 聚间苯二甲酸，IPA（间位）	
聚二对羧基苯氧基烷类 $m=1$ 聚 1-二对羧基苯氧基甲烷，CPM $m=3$ 聚 1，3-二对羧基苯氧基丙烷，CPP $m=6$ 聚 1，6-二对羧基苯氧基己烷，CPH	

由于均聚物具有不利于处理和加工的特点，所以没有研究。聚癸二酸、聚（1，3-二对羧基苯氧基丙烷）和聚富马酸都是半结晶性的，因而易碎，熔点较高，而聚脂肪酸二聚体是液体。因此，聚酸酐常用脂肪族和（或）芳香族单体来共聚制备。给药系统最常用的共聚物是脂肪酸二聚体-癸二酸共聚物［poly（FAD-SA）］和 1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物［poly（CPP-SA）］。

对脂肪族聚酸酐的研究发现，随着二羧酸单体的烃链长度的增加（如 n 从 4 增加到 12）聚合物的疏水性也增加，从而导致聚合物降解速度和药物释放速度下降[49]。体内外都发现有这种趋势。虽然聚脂肪酸二聚体是无定形的，但在脂肪酸二聚体-癸二酸共聚物中发现一旦癸二酸的摩尔分数提高到 30%以上，共聚物的结晶度就急剧增加。尽管这样，提高癸二酸比例聚合物的降解速度还是加快，这可能是因为癸二酸比脂肪酸二聚体更亲水[50]。各种组成比例的 1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物都是半结晶性的，当癸二酸的摩尔分数为 15%～70%时，共聚物的结晶度最低。虽然组成比例对聚合物的结晶度影响较小，但共聚物组成的变化可以影响聚合物的降解速度。图 5 是癸二酸摩尔分数从 0%到 79%的 1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物体外降解的相对速度。在这个例子中我们发现，

Z

100%的聚（1，3-二羧基苯氧基丙烷）的降解用外推法估计需要3年，而癸二酸含量最高的共聚物降解时间只需1～2周。合成聚酸酐的最初动机是为了制备通过表面溶蚀过程以恒速降解的给药装置。结果用聚癸二酸制得的圆片在6d内可以实现接近零级速率降解，癸二酸摩尔分数80%和20%的1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物也可以实现近似零级速度的降解。类似地，聚（1，3-二对羧基苯氧基丙烷）和85∶15的1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物也呈现恒速降解曲线，可以持续几个月时间。

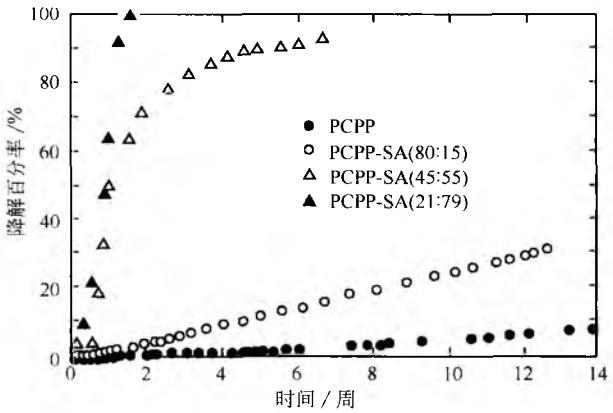


图5 模压法制得的含不同比例癸二酸的1，3-对二羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物体外降解曲线（用质量下降百分数表示）。共聚物在37℃的0.1mol/L pH 7.4的磷酸缓冲液中保温[47]

据文献报道，根据癸二酸从聚合物中释放的速度，脂肪酸二聚体-癸二酸共聚物的降解也是接近零级的[50]。但有证据表明用这些聚合物制成的给药装置不一定以纯粹的表面溶蚀机理进行降解。从降解的1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物骨架中释放单个单体的累积释放曲线看，癸二酸的释放速度比1，3-二对羧基苯氧基丙烷的释放速度要快得多。在1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物中无定形区域首先水解，剩下的则是孔状网络，围绕在剩余的富含结晶结构的周围[48]，这和某些聚酯类似。这些发现间接表明虽然聚酸酐能以表面溶蚀机理降解，但实际过程是很复杂的，包括聚合物的降解和给药装置的溶蚀。

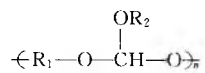
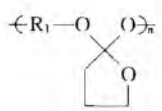
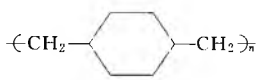
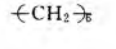
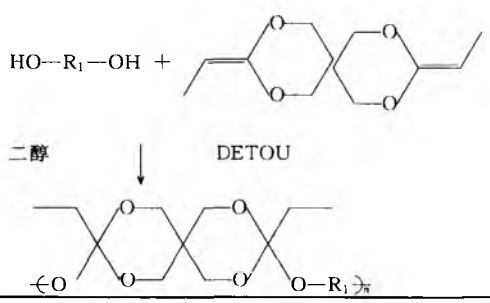
目前研究了许多药物从聚酸酐骨架中的释放，包括环丙沙星[49]、对硝基苯胺[47,51]、醋酸可的松[51]、胰岛素[51]和各种蛋白质[50]。据报道，在很多例子中，药物释放和聚合物降解是一致的。也有很多关于聚酸酐生物相容性的研究[51～54]。唯一获得批准上市的产品是Gliadel®，它是直径为1.45cm，厚为1mm的薄圆片，含卡氮芥（BCNU）7.7mg，是用20∶80的1，3-二对羧基苯氧基丙烷-癸二酸共聚物制成的。复发的胶质细胞瘤是恶性脑部癌症，手术切除复发胶质细胞瘤后，在切后空腔内植入8片Gliadel®，研究发现BCNU从Gliadel®圆片中释放是受药物扩散和聚酸酐骨架的溶蚀控制[55]。

3. 聚原酸酯类

自从1970年以来，为了制备表面溶蚀可生物降解聚合物，特别是为了制备供药物输送用的聚合物，开发了一系列的聚原酸酯[56～61]。用二醇［1，6-正己二醇——HD或顺式（反式）1，4-环己烷二甲醇——CHDM］和原酸酯（二乙氧基四氢呋喃——DETHF）进行缩聚，合成了第一个易水解的聚原酸酯。它开始被称为Chronomer™，是由Choi和Heller在Alza公司开发的（表6），后来改名为Alzamer®，这类聚合物的开发已经停止。随着γ-羟基丁内酯快速开环形成γ-羟基丁酸，Alzamer®水解产生相应的二醇。由于酸催化聚合物水解，所以副产物的产生加速了剩余聚合物的降解速度，为了避免严重的自身加速水解，聚合物常加入无机碱如碳酸钠使其稳定。

为了克服这些聚合物的缺点，Heller在美国斯坦福研究院开发了新一代的聚原酸酯。第二代聚原酸酯是用二醇和环双烯酮缩醛、3，9-二亚乙基-2，4，8，10-四氧螺［5.5］十一烷（DETOU）制得的（表6）。当用不同比例的二醇（即HD和CHDM）制备聚原酸酯时，聚原酸酯具有较宽的机械性能范围。随着HD组分从0%增加到100%，聚合物的玻璃化转化温度相应地从100℃以上降低到大约20℃[57]。此外，用较长的烃链线性二醇合成的DETOU聚原酸酯的玻璃化转化温度可能进一步降低。烃链长度从6增加到12，T_g从20℃下降到0℃[59]。这些聚合物的玻璃化转化温度的下降反映了二醇组分的链柔韧性增加。

表6 常用聚原酸酯结构

聚原酸酯链接	
聚原酸酯Ⅰ，有：	
R_1＝顺式/反式-环己烷二甲醇，CHDM	
R_1＝1，6-正己二醇，HD	
聚原酸酯Ⅱ（合成方法）	
	

因为单体的疏水性，人们发现DETOU聚原酸酯的体外降解相对较慢，大约150d后质量只下降15%，325d后下降60%。这都说明这些聚合物的水合作用慢（即吸收水分的质量分数为0.3%～0.75%）。尽管DETOU聚原酸酯的降解也是酸催化的，但降解产物不会产生任何酸性。

Heller 建议通过在聚合物骨架中加入酸性物质的方法实现加快聚合物的降解的目的。在用 1，6-正己二醇制备的 DETOU 聚原酸酯中加入 1%（质量分数）辛二酸，二羟水杨酸钠曲酮在体外 30 天可以释放完[57]。相反，加入碱（氢氧化镁）可以使聚合物稳定不易水解。

对于为了调节聚合物降解速度而掺入辅料的做法，潜在的缺点是辅料可能在聚合物降解完成前就扩散出给药装置。对于酸性添加剂，这将使聚合物的溶蚀明显放慢，也就意味着剩余的聚合物将在植入组织处存在较长时间。为了避免这种可能，一种新方法可以使聚合物内部保持酸性。例如，易水解的酯键被结合在聚合物网络中，使这些基团降解产生的酸性物质在整个降解过程中以共价键结合在聚合物体系中。

用三元醇（如 1，2，6-正己三醇）和 DETOU 预聚物反应可以形成交联网状结构。将 30%（质量分数）左炔诺孕酮和 7%（质量分数）作为稳定剂的微粉化氢氧化镁制成棒状聚合物系统（直径为 2.4mm）。这些给药装置中含有 1%（质量分数）的 9，10-二羟基硬脂酸以调节聚合物溶蚀速度，其扫描电镜照片显示植入后表面溶蚀持续 16 周，并发现降解区逐渐向棒的中心移动，同时由于聚合物不断降解，溶蚀使降解区域出现越来越多的孔道[56]。

Heller 和同事在 *Advanced Polymers Systems* 中一直开发具有不同物理性质和潜在用途的其他聚原酸酯[60,61]。总的来说，聚原酸酯有表面溶蚀的特性，但仍存在一些可能限制这类聚合物商业应用的问题。首先是这些聚合物的合成，包括复杂的单体和聚合反应；其次，至今这些聚合物及降解产物的毒性和生物相容性还没有完全被了解；最后还有一点是必须使用像酸和碱这样的 pH 调节剂，也许使用 pH 调节剂是不合乎要求的，它们可能影响药物的稳定性。

4. 含磷聚合物类

有两类常用的含磷聚合物：一类是膦腈类（表 7）；一类是磷酸酯（表 8）。通过单体侧链取代基的简单变化可以合成一系列具有不同化学、物理、机械性质的聚合物。用聚二氯膦腈和有机亲核试剂（醇盐类、芳香醚类或胺类）反应合成含有磷氮双键和单键交替的聚膦腈[62,63]，将药物以共价键和聚膦腈相连制得聚合物前药，如普鲁卡因、苯佐卡因和肝素。为了改变聚合物的疏水性和膦腈键的水解稳定性，更典型的做法是选择不同的侧链取代基，表 7 列出了含有各种比例咪唑和甲基苯氧基侧链的共聚物[62]。聚合物中随着咪唑含量的增加膦腈键的水解活性增加。在磷酸缓冲液中放置 600h 后，含有 20%咪唑的聚膦腈由于降解质量只下降 4%，而含有 45%咪唑的聚合物质量下降超过 30%。选择对硝基苯胺、黄体酮和牛血清蛋白作为模型药物，对这些聚合物作为药物输送载体的合适性进行了评价[62]。

表 7 常用含磷聚合物——聚膦腈类

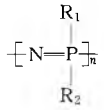
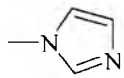
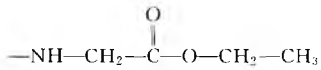
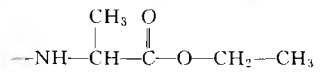
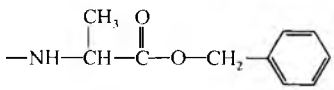
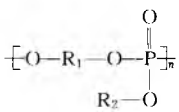
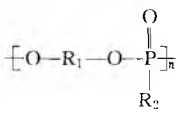
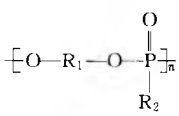
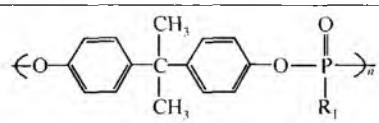
聚膦腈键	
R_1 和 R_2 侧链取代基：	
甲基苯氧基	
咪唑基	
乙基甘氨酸	
乙基丙氨酸	
乙基苯丙氨酸	

表 8 常用含磷聚合物——聚磷酸酯类

聚磷酸酯键	
聚膦酸酯键	
聚亚膦酸酯键	
双酚 A（BPA）聚磷酸酯类	
BPA-EP，聚乙膦酸-BPA	R_1 =—CH_2—CH_3
BPA-EOP，聚乙基磷酸-BPA	R_1 =—O—CH_2—CH_3
BPA-PP，聚苯基膦酸-BPA	R_1 = 
BPA-POP，聚苯基磷酸-BPA	R_1 =—O— 

用经修饰的氨基酸酯侧链取代基来制备聚膦腈[63]（表 7），研究结果表明聚合物侧链疏水性最弱（甘氨酸乙酯），具有最快的降解速度，这主要是由于小侧链基团的空间位阻较小，不能有效地保护膦腈键不受水解。这种聚合物的膜在体外降解 1200h（50d）后质量下降 40%（以质量损失百分数计），而含有较长氨基酸侧链（如丙氨酸乙酯和苯丙

氨酸乙酯）的聚合物在相同降解时间内质量损失只有10%～15%。所以在氨基酸侧链的α-碳上取代似乎比酯取代基的完全疏水性对聚合物水解的影响要大。聚合物降解产物的性质表明这些聚合物可降解成磷酸盐、甘氨酸或丙氨酸、乙醇或苯甲醇和氨水。正如用依他尼酸和偶氮染料Biebrich Scarlet所证明的那样，药物释放遵循聚合物降解相同的趋势，甘氨酸乙酯聚合物表现出最快的药物释放速度。有人将聚膦腈作为蛋白质类[64]、萘普生[65,66]、秋水仙碱[67]之类的药物输送载体以及用于牙周治疗进行了研究[68]。

磷酸酯类聚合物包括聚磷酸酯类、聚膦酸酯类和聚亚磷酸酯类（表8）。已经制备了基于双酚A（BPA）的一系列磷酸酯，并在给药系统中进行了评价[69,70]。用二醇（BPA）和二氧磷二氯化物进行界面缩聚反应，选择烷基或烷氧基取代的二氯化物可以分别合成膦酸酯聚合物或磷酸酯聚合物。人们合成了玻璃化转化温度为103～115℃的高分子质量的聚合物（M_w在20～40kDa），这些聚合物体内外的吸水溶胀随着相应的磷酸酯取代基的亲水性增加而增加。在降解过程中脂肪族聚磷酸酯BPA-EOP的吸水溶胀程度最大，而芳香族聚膦酸酯BPA-PP则最小。随着聚合物亲水性的增加，降解速度增加。例如，BPA-EOP和BPA-PP样品在植入家兔30周后，质量下降百分数分别为35%和10%。

其他二醇也已被用于制备聚磷酸酯类聚合物，主要有1，4-二羟乙基-苯二酸酯（BHET）和反式-环己烷二甲醇（T-CHDM）。最近有人综述了各种聚磷酸酯类的性质和合成方法[71]。人们对用低聚聚酯二醇和乙基磷酸二氯化物（EOP）进行缩聚制备聚磷酸酯具有特别的兴趣，二醇的预聚物是用乙二醇或1，2-丙二醇来引发环形丙交酯开环缩合。这个聚合反应可以制备低相对分子质量的低聚聚酯二醇，制得的低聚聚酯二醇再和EOP聚合。实际上制得的产物是丙交酯-磷酸酯共聚物，当磷酸酯含量增加时共聚物降解速度加快。最近Guilford制药公司正在研究这种聚合物，将这种聚合物用于化疗药物紫杉醇的输送中[72]。

新的研究方向

人们一直在用各种方法寻求更好的可生物降解给药系统，并对新的和改良的具有不同降解特性和药物输送特性的聚合物进行筛选和评价。与此同时，正在开发创新的工程化方法和生产方法来生产具有新型三维结构特征的给药装置和物理平台。在一些例子中，这些产品使得可生物降解给药装置来作为全新治疗方法成为可能。一种方法是制备可生物降解的交联聚合物网络，将亲水性聚合物交联可以制得能吸收大量水分的水凝胶（如吸水量超过10%）。通常可以用三种方法实现交联：形成共价键、离子的相互作用和高度缠结的分子链网络。通过破坏交联键或聚合物骨架键或通过聚合物网络的解缠结和溶解使交联聚合物网络发生降解。对于开发大分子给药输送系统的研究人员来说，水凝胶所具有的高度溶胀的三维结构是一个很引人关注的特点。很多来源于天然材料的聚合物被用于制备水凝胶，如海藻酸[73]、右旋糖酐[74]、胶原[75]、明胶[76]和白蛋白[77]。另外，现已证实生物相容的聚合物（如PLA、PLG[78]和聚γ-苄基-L-谷氨酸[79]）已经用于制备交联的合成水凝胶。基于其他成分类型的许多可生物降解水凝胶也已被合成[80]。

人们已经用新方法设计了新型可生物降解药物输送平台。最近，通过形成海绵状或缠结纤维性基质的方法来合成具有可控孔密度和孔大小的多孔聚合物平台[81,82]。近来人们研究该体系用作细胞治疗的细胞外基质，载有活细胞的基质能释放生物活性物质，作为可植入的人工器官。在某些研究中，用PLA骨架包裹肝细胞可以存活14天。在其他研究中，移植的肝细胞能形成新的肝样组织[83]。用含有胰岛细胞的纤维状PGA基质作为人工胰岛，可以使胰岛素根据葡萄糖的响应来释放[84]。其他聚合物（像聚膦腈）也在进行研究用于细胞治疗[85]，同时研究的还有作为胰岛移植的海藻酸盐水凝胶[86]。人们研究在可生物降解聚合物平台中种入成骨细胞[87]或者骨源性生长因子[88]，再将该生物降解聚合物植入体内，从而来诱导骨骼生长。最近有几篇文献综述了在细胞治疗和组织工程方面可生物降解聚合物平台不断增加的应用[81,83,89,90]。

结论

对于可生物降解药物输送平台的开发，是令人鼓舞的。实际上，体内药物的缓慢释放已经实现，因为许多产品已经通过官方的审查，这证明在商业上是成功的。新的聚合物不断开发出来，同时新的治疗用途也在被不断地认识。

参考文献

1. Robinson, J. R.; Lee, V. H. L. Controlled Drug Delivery; From Series: Drugs and the Pharmaceutical Sciences Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 29.
2. Banker, G. S. Pharmaceutical Applications of Controlled Release—An Overview of the Past, Present, and Future. Medical Applications of Controlled Release; Langer, R. S., Wise, D. L., Eds.; CRC Press: Boca Raton, Florida, 1984; II.
3. Physicians Desk Reference, 53rd Ed.; Medical Economics Company, Inc.: Montvale, New Jersey, 1999.
4. Fraser, I. S.; Tiitinen, A.; Affandi, B.; Brache, V.; Croxatto, H. B.; Diaz, S.; Ginsburg, J.; Gu, S.; Holma, P.; Johansson, E.; Meirik, O.; Mishell, D. R.; Nash, H. A.; von Schoultz, I.; Sivin, I. Norplant® Consensus Statement and Background Review. Contraception 1998, 57, 1—9.
5. Harrison, P. F.; Rosenfield, A. Research, Introduction, and Use: Advancing from Norplant. Contraception 1998,

58, 323—334.

6. Heller, J. Biodegradable Polymers in Controlled Drug Delivery. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 1984, 1 (1), 39—90.
7. Pitt, C. G.; Schindler, A. Biodegradation of Polymers. Controlled Drug Delivery; Bruck, S. D., Ed.; CRC Press: Boca Raton, Florida, 1983; 1.
8. Sidman, K. R.; Schwope, A. D.; Steber, W. D.; Rudolph, S. E. Use of Synthetic Polypeptides in the Preparation of Biodegradable Delivery Systems for Narcotic Antagonists. NIDA Research Monograph 1981, 28, 214—231.
9. Charles, E. L.; Buffalo, N. Y. U. S. Patent 2, 668, 162, 1954 (to E. I. DuPont de Nemours).
10. Schmitt, E. E.; Polistina, R. A. U. S. Patent 3, 297, 033, 1967 (to American Cyanamid).
11. Kulkarni, R. K.; Pani, K. C.; Neuman, C.; Leonard, F.; Polylactic Acid for Surgical Implants, Technical Report 6608, Walter Reed Army Medical Center (Project 3A013001A9-1C), 1966.
12. Wasserman, D. U. S. Patent, 3, 375, 008, 1971.
13. Yolles, S.; Eldridge, J. E.; Woodland, J. H. R. Sustained Delivery of Drugs from Polymer/Drug Mixtures. Polym. News 1970, 1, 9—15.
14. Yolles, S.; Leafe, T. D.; Meyer, F. J. Timed-release Depot for Anticancer Agents. J. Pharm. Sci. 1975, 64 (1), 115—116.
15. Yolles, S.; Leafe, T.; Ward, L.; Boettner, F. Controlled Release of Biologically Active Drugs. Bull. Parent. Drug Assoc. 1976, 30 (6), 306—312.
16. Yolles, S.; Woodland, J. H. R. Long-acting Delivery Systems for Narcotic Antagonists. 1. 1973, 16 (8), 897—901.
17. Wise, D. L. Controlled Release for Use in Treatment of Narcotic Addiction. Medical Applications of Controlled Release; Langer, R., Wise, D. L., Eds.; CRC Press: Boca Raton, Florida, 1984; II.
18. Schwope, A. D.; Wise, D. L.; Howes, J. F. Development of Polylactic/glycolic Acid Delivery Systems for Use in Treatment of Narcotic Addiction. NIDA Research Monograph 1976, 4, 13—18.
19. Kronenthal, R. L. Biodegradable Polymers in Medicine and Surgery. Polymers in Medicine and Surgery; From series, Kronenthal, R. L., Oser, Z., Martin, E., Eds.; Polymer Science and Technology; Plenum Press: New York, 1975; 8.
20. Heller, J.; Baker, R. W. Theory and Practice of Controlled Drug Delivery from Bioerodible Polymers. Controlled Release of Bioactive Materials; Baker, R., Ed.; Academic Press: New York, 1980; 1—17.
21. Lewis, D. H. Controlled Release of Bioactive Agents from Lactide/Glycolide Polymers. Drugs Pharm. Sci. 1990, 45, 1—41.
22. Holland, S. J.; Tighe, B. J.; Gould, P. L. Polymers for Biodegradable Medical Devices. 1. The Potential of Polyesters As Controlled Macromolecular Release Systems. J. Control. Rel. 1986, 4, 155—180.
23. Crotts, G.; Park, T. G. Protein Delivery from Poly (lactic-co-glycolic Acid) Biodegradable Microspheres: Release Kinetics and Stability Issues. J. of Microencap. 1998, 15 (6), 699—713.
24. Putney, S. D.; Burke, P. A. Improving Protein Therapeutics with Sustained-Release Formulations. Nat. Biotechnol. 1998, 16 (2), 153—157.
25. Sanders, L. M.; Kent, J. S.; McRae, G. I.; Vicery, B. H.; Tice, T. R.; Lewis, D. H. Controlled Release of a Luteinizing Hormone-releasing Hormone Analog from Poly (D, L-lactide-co-glycolide) Microspheres. J. Pharm. Sci. 1984, 73 (9), 1294—1294.
26. Jacobi, G. H.; Wenderoth, U. K.; Ehrenthal, W.; von Wallenberg, H.; Spindler, H. W.; Hohenfellner, R. Endocrine and Clinical Evaluation of 107 Patients With Advanced Prostatic Carcinoma Under Long-term Pernasal Buserelin or Intramuscular Decapeptyl Depot Treatment. Am. J. Clin. Oncol. 1988, 11 (Suppl. 1), S36—S43.
27. Dlugi, A. M.; Miller, J. D.; Knittle, J. Lupron Depot (Leuprolide Acetate for Depot Suspension) in the Treatment of Endometriosis: A Randomized, Placebo-controlled, Double-blind Study. Lupron Study Group. Fertil. Steril. 1990, 54 (3), 419—427.
28. Akaza, H.; Usami, M.; Koiso, K.; Kotake, T.; Aso, Y.; Niijima, T. Long-term Clinical Study on Luteinising Hormone-releasing Hormone Agonist Depot Formulation in the Treatment of Stage D Prostatic Cancer. The TAP-144-SR Study Group. Jpn. J. Clin. Oncol. 1992, 22 (3), 177—184.
29. Neely, E. K.; Hintz, R. L.; Parker, B.; Bachrach, L. K.; Cohen, P.; Olney, R.; Wilson, D. M. Two-year Results of Treatment With Depot Leuprolide Acetate for Central Precocious Puberty. J. Pediatr. 1992, 121 (4), 634—640.

30a. Hunter, S. J.; Shaw, J. A. M.; Lee, K. O.; Woods, P. J.; Atkinson, A. B.; Bevan, J. S. Comparison of Monthly Intramuscular Injections of Sandostatin LAR with Multiple Subcutaneous Injections of Octreotide in the Treatment of Acromegaly; Growth Hormone Secretion. Clin. Endocrinol. (Oxf.) 1998, 50, 245—251.

Z

Z

30b. Davies, P. H.; Stewart, S. E.; Lancranjan, L.; Sheppard, M. C.; Stewart, P. M. Long-term Therapy with Long-acting Octreotide (Sandostatin-LAR) for the Management of Acromegaly. Clin. Endocrinol. (Oxf.) 1998, 48 (3), 311—316.

31. Rubin, J.; Ajani, J.; Schirmer, W.; Venook, A. P.; Bukowski, R.; Pommier, R.; Saltz, L.; Dandona, P.; Anthony, L. Octreotide Acetate Long-acting Formulation Versus Open-label Subcutaneous Octreotide Acetate in Malignant Carcinoid Syndrome. J. Clin. Oncol. 1999, 17 (2), 600—606.

32. Johnson, O. L.; Jaworowicz, W.; Cleland, J. L.; Bailey, L.; Charnis, M.; Duenas, E.; Wu, C.; Shepard, D.; Magil, S.; Last, T.; Jones, A. J.; Putney, S. D. The Stabilization and Encapsulation of Human Growth Hormone into Biodegradable Microspheres. Pharm. Res. 1997, 14 (6), 730—735.

33. Berner, B.; Dinh, S. Fundamental Concepts in Controlled Release. Treatise on Controlled Drug Delivery; Kydonieus, A., Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992.

34. Heller, J. Fundamentals of Polymer Science. Controlled Drug Delivery; Robinson, J. R., Lee, V. H. L., Swarbrick, J., Eds.; From Series: Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Chapter 3: Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987; 29.

35. Bruck, S. D.; Mueller, E. P. Materials and Biological Aspects of Synthetic Polymers in Controlled Drug Release Systems: Problems and Challenges. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 1988, 5 (3), 171—187.

36. Cohen, S.; Yoshioka, T.; Lucarelli, M.; Hwang, L. H.; Langer, R. Controlled Delivery Systems for Proteins Based on Poly (Lactic/glycolic Acid) Microspheres. Pharm. Res. 1991, 8 (6), 713—720.

37. Joshi, A.; Himmelstein, K. J. Dynamics of Controlled Release from Bioerodible Matrices. J. Control. Rel. 1991, 15, 95—104.

38. Lee, P. I. Diffusional Release of a Solute from a Polymeric Matrix—Approximate Analytical Solutions. J. Membr. Sci. 1980, 7, 255—275.

39. Hopfenberg, H. B. Controlled Release from Erodible Slabs, Cylinders, and Spheres. Controlled Release Polymeric Formulations; Paul, D. R., Harris, F. W., Gould, R. F., Eds.; American Chemical Society: Washington DC, 1976.

40. Kopecek, J.; Ulbrich, K. Biodegradation of Biomedical Polymers. Prog. Polym. Sci. 1983, 9, 1—58.

41. Gilding, D. K.; Reed, A. M. Biodegradable Polymers for Use in Surgery—Polyglycolic/Poly (Lactic Acid) Homo- and Copolymers: 1. Polymer 1979, 20, 1459—1464.

42. Li, S. M.; Garreau, H.; Vert, M. Structure-property Relationships in the Case of the Degradation of Massive Poly- (α-hydroxy Acids) in Aqueous Media, Part 1. Poly (DL-Lactic Acid). J. Mater. Sci. Mater. in Med. 1990, 1, 123—130.

43. Reed, A. M.; Gilding, D. K. Biodegradable Polymers for Use in Surgery—Polyglycolic/Poly (Lactic Acid) Homo-and Copolymers: 2. In Vitro Degradation. Polymer 1981, 22, 494—498.

44. Fukuzaki, H.; Yoshida, M.; Asano, M.; Kumakura, M. Synthesis of Copoly (D, L-lactic acid) With Relatively Low Molecular Weight and In Vitro Degradation. Eur. Polym. J. 1989, 25 (10), 1019—1026.

45. Jain, R.; Shah, N. H.; Malick, A. W.; Rhodes, C. T. Controlled Drug Delivery by Biodegradable Poly (ester) Devices: Different Preparative Approaches. Drug Dev. and Ind. Pharm. 1998, 24 (8), 703—727.

46. O'Hagan, D. T. Recent Advances in Vaccine Adjuvants for Systemic and Mucosal Administration. J. Pharm. Pharmacol. 1997, 49, 1—10.

47. Leong, K. W.; Brott, B. C.; Langer, R. Bioerodible Polyanhydrides as Drug-carrier Matrices. I: Characterization, Degradation and Release Characteristics. J. Biomed. Mat. Res. 1985, 19, 941—955.

48. Gopferich, A. Biodegradable Polymers: Polyanhydrides. In The Encyclopedia of Controlled Release; Mathiowitz, E., Ed.; Wiley: New York, 1999; 60—71.

49. Domb, A. J.; Nudelman, R. In Vivo and In Vitro Elimination of Aliphatic Polyanhydrides. Biomaterials 1995, 16 (4), 319—323.

50. Tabata, Y.; Gutta, S.; Langer, R. Controlled Delivery Systems for Proteins Using Polyanhydride Microspheres. Pharm. Res. 1993, 10 (4), 487—496.

51. Leong, K. W.; Kost, J.; Mathiowitz, E.; Langer, R. Polyanhydrides for Controlled Release of Bioactive Agents. Biomaterials 1986, 7, 364—371.

52. Laurencin, C. T.; Pierre-Jacques, H. M.; Langer, R. Toxicology and Biocompatibility Considerations in the Evaluation of Polymeric Materials for Biomedical Applications. 1990, 10 (3), 549—570.

53. Leong, K. W.; D'Amore, P.; Marletta, M.; Langer, R. Bioerodible Polyanhydrides as Drug-Carrier Matrices. II: Biocompatibility And Chemical Reactivity. J. Biomed. Mat. Res. 1986, 20, 51—64.

54. Tamada, J.; Langer, R. The Development of Polyanhydrides for Drug Delivery Applications. J. Biomater. Sci., Polym. Ed. 1992, 3 (4), 315—353.

55. Dang, W.; Daviau, T.; Brem, H. Morphological Characterization of Polyanhydride Biodegradable Implant Gliadel During In Vitro and In Vivo Erosion Using Scanning Electron Microscopy. Pharm. Res. 1996, 13 (5), 683－691.
56. Heller, J. Controlled Drug Release from Poly (Ortho Esters) －A Surface Eroding Polymer. J. Control. Rel. 1985, 2, 167－177.
57. Heller, J. Development of Poly (Ortho Esters): A Historical Overview. Biomaterials 1990, 11, 659－665.
58. Heller, J. Poly (Ortho Esters). Adv. Polym. Sci. 1993, 107, 41－92.
59. Heller, J. Poly (Ortho Esters). The Encyclopedia of Controlled Release; Mathiowitz, E., Ed.; Wiley: New York, 1999; 852－874.
60. Heller, J.; Barr, J.; Ng, S. Y.; Shen, H-R.; Schwach-Abdellaoui, K.; Emmahl, S.; Rothen-Weinhold, A.; Gurny, R. Poly (Ortho Esters) —Their Development and Some Recent Applications. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000, 50 (1), 122－128.
61. Rothen-Weinhold. A.; Heller, J.; Barr, J.; Gurny, R. Poly (Ortho Esters) Implants for the Sustained Delivery of a Protein: Factors Influencing the Release Behavior of BSA In Vitro. Proc Intl. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 2000, 27, 8004.
62. Laurencin, C. T.; Koh, H. J.; Neenan. T. X.; Allcock, H. R.; Langer, R. Controlled Release Using a New Bioerodible Polyphosphazene Matrix System. J. Biomed. Mat. Res. 1987, 21, 1231－1246.
63. Allcock, H. R.; Pucher, S. R.; Scopelianos, A. G. Poly [(Amino Acid Ester) phosphazenes] as Substrates for the Controlled Release of Small Molecules. Biomaterials 1994, 15 (8), 563－569.
64. Payne, L. G.; Andrianov, A. K. Protein Release from Polyphosphazene Matrices. Adv. Drug Deliv. Rev. 1998, 31 (3), 185－196.
65. Caliceti, P.; Lora, S.; Marsilio, F.; Veronese, F. M. Preparation and Characterization of Polyphosphazene-based Controlled Release Systems for Naproxen. Farmaco 1995, 50 (12), 867－874.
66. Veronese, F. M.; Marsilio, F.; Caliceti, P.; De Filippis, P.; Giunchedi, P.; Lora, S. Polyorganophosphazene Microspheres for Drug Release: Polymer Synthesis, Microsphere Preparation, In Vitro and In Vivo Naproxen Release. J. Control. Rel. 1998, 52 (3), 227－237.
67. Ibim, S. M.; el-Amin, S. F.; Goad, M. E.; Ambrosio, A. M.; Allcock, H. R.; Laurencin, C. T. In Vitro Release of Colchicine Using Poly (Phosphazenes): The Development of Delivery Systems for Musculoskeletal Use. Pharm. Dev. Technol. 1998, 3 (1), 55－62.
68. Veronese, F. M.; Marsilio, F.; Lora, S.; Caliceti, P.; Passi, P.; Orsolini, P. Polyphosphazene Membranes and Microspheres in Periodontal Diseases and Implant Surgery. Biomaterials 1999, 20 (1), 91－98.
69. Richards, M.; Dahivat, B. I.; Arm, D. M.; Brown, P. R.; Leong, K. W. Evaluation of Polyphosphates and Polyphosphonates as Degradable Biomaterials. J. Biomed. Mat. Res. 1991, 25, 1151－1167.
70. Saltzman, W. M.; Parsons-Wingerter, P.; Leong, K. W.; Lin, S. Fibroblast and Hepatocyte Behavior on Synthetic Polymer Surfaces. J. Biomed. Mat. Res. 1991, 25, 741－759.
71. Mao, H-Q.; Kadivala, I.; Leong, K. W.; Zhao, Z.; Dang, W. Biodegradable Polymers: Poly (Phosphoester) s. The Encyclopedia of Controlled Release; Mathiowitz, E., Ed.; Wiley: New York, 1999; 45－60.
72. Harper, E.; Dang, W.; Lapidus, R. G.; Garver, R. I. Enhanced Efficacy of a Novel Controlled Release Paclitaxel Formulation (PACLIMER® Delivery System) for Local-regional Therapy of Lung Cancer Tumor Nodules in Mice. Clin. Cancer Res. 1999, 5, 4242－4248.
73. Wee, S.; Gombotz, W. R. Protein Release from Alginate Matrices. Adv. Drug Deliv. Rev. 1998, 31 (3), 267－285.
74. Cadee, J. A.; van Luyn, M. J.; Brouwer, L. A.; Plantinga, J. A.; van Wachem, P. B.; deGroot, C. J.; den Otter, W.; Hennink, W. E. In Vivo Biocompatibility of Dextran-based Hydrogels. J. Biomed. Mater. Res. 2000, 50 (3), 397－404.
75. Rao. K. P. Recent Developments of Collagen-based Materials for Medical Applications and Drug Delivery Systems. J. Biomater. Sci., Polym. Ed. 1995, 7 (7), 623－645.
76. Ikada, Y.; Tabata . Y. Protein Release from Gelatin Matrices. Adv. Drug Deliv. Rev. 1998, 31 (3), 287－301.
77. D'Urso, E. M.; Jean-Francois, J.; Doillon, C. J.; Fortier, G. Poly (Ethylene Glycol) -Serum Albumin Hydrogel as Matrix for Enzyme Immobilization: Biomedical Applications. Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. 1995, 23 (5), 587－595.
78. Sawhney, A. S.; Pathak, C. P.; van Rensburg, J. J.; Dunn, R. C.; Hubbell, J. A. Optimization of Photopolymerized Bioerodible Hydrogel Properties for Adhesion Prevention. J. Biomed. Mat. Res. 1994, 28, 831－838.
79. Markland, P.; Zhang, Y.; Amidon, G. L.; Yang, V. C. A pH-and Ionic Strength-responsive Polypeptide Hydrogel: Synthesis, Characterization, and Preliminary

Protein Release Studies. J. Biomed. Mat. Res. 1999, 47 (4), 595—602.

80. Kamath, K. R.; Park, K. Biodegradable Hydrogels in Drug Delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 1993, 11, 59—84.
81. Kim, B-S.; Mooney, D. J. Development of Biocompatible Synthetic Extracellular Matrices for Tissue Engineering. Tibtech 1998, 16, 224—230.
82. Wald, H. L.; Sarakinos, G.; Lyman, M. D.; Mikos, A. G.; Vacanti, J. P.; Langer, R. Cell Seeding in Porous Transplantation Devices. Biomaterials 1993, 14 (4), 270—278.
83. Murphy, W. L.; Mooney, D. J. Controlled Delivery of Inductive Proteins, Plasmid DNA, and Cells from Tissue Engineering Matrices. J. Periodont. Res. 1999, 34, 413—419.
84. Juang, J-H.; Bonner-Weir, S.; Vacanti, J. P.; Weir, G. C. Outcome of Subcutaneous Islet Transplantation Improved by a Polymer Device. Transplantation Proceedings 1995, 27 (6), 3215—3217.
85. Cohen, S.; Bano, M. C.; Cima, L. G.; Allcock, H. R.; Vacanti, J. P.; Vacanti, C. A.; Langer, R. Design of Synthetic Polymeric Structures for Cell Transplantation and Tissue Engineering. Clin. Mater. 1993, 13 (1—4), 3—10.
86. Lim, F.; Sun, A. M. Microencapsulated Islets As Bioartificial Endocrine Pancreas. Science 1980, 210 (21), 908—910.
87. Laurencin, C. T.; El-Amin, S. F.; Ibim, S. E.; Willoughby, D. A.; Attawia, M.; Allcock, H. R.; Ambrosio, A. A. A Highly Porous 3-Dimensional Polyphosphazene Polymer Matrix for Skeletal Tissue Regeneration. J. Biomed. Mat. Res. 1996, 30, 133—138.
88. Meikle, M. C.; Papaioannou, S.; Ratledge, T. J.; Speight, P. M.; Watt-Smith, S. R.; Hill, P. A.; Reynolds, J. J. Effect of Poly D-lactide-co-glycolide Implants and Xenogeneic Bone Matrix-derived Growth Factors on Calvarial Bone Repair in the Rabbit. Biomaterials 1994, 15 (7), 513—521.
89. Peter, S. J.; Miller, M. J.; Yaszemski, M. J.; Mikos, A. G. Polymer Concepts in Tissue Engineering. J. Biomed. Mat. Res. 1998, 43, 422—427.
90. Kim, S. S.; Vacanti, J. P. The Current Status of Tissue Engineering As Potential Therapy. Semin. Pediatr. Surg. 1999, 8 (3), 119—123.

（栾瀚森 译）

Z

ZETA 电位

Luk Chiu Li
Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, U. S. A.
Youqin Tian
Alcon Research, Ltd., Fort Worth, Texas, U. S. A.

引言

分散体系代表了一类重要的药物剂型，如乳剂、混悬剂、微球、脂质体和纳米粒。这些体系的介质大多是水性的，分散相可以是固态颗粒或与介质不相溶的液滴。多种机理使分散相和水性介质界面之间产生电荷[1]。两个最常见的机理是表面官能团的离子化和离子的特定吸附。这些电荷对于研究分散相中粒子之间的相互作用和体系的物理稳定性具有重要意义，尤其对那些胶体粒子而言。对于用作药物载体的分散体系，如脂质体和微球，它们在体内的命运和治疗效果都受到表面电荷的影响。因而在建立这些分散体系时，研究这个电现象就变得非常重要。

这些表面电荷的存在会影响粒子周围电荷（离子）的不规则分布，在分散体系中粒子表面和电中性主体溶液间建立电压（或电场）。表面电荷及其周围带相反电荷的离子形成了双电层，见图 1。双电层被一个叫做 Stern 层的平面分成两部分，Stern 层距离表面约一个水合离子半径。通常 Stern 层的离子数较少，与用来中和表面电荷而位于 Stern 层外层的 Gouy-Chapman 层相平衡。表面电压（ψ_0）和 Stern 电压（ψ_δ）不容易通过实验测得，而包裹粒子的静止流体层和主体溶液相之间的电压可以通过测定粒子在外加电场中的移动来获得。与粒子表面紧密结合的液层与主体溶液相之间的电压叫 zeta 电位（ζ）。它能反映粒子的表面净电荷和界面的电压分布。zeta 电位是描述分散体系中粒子间相互静电作用和受这个电现象影响的分散体系性质的一个重要参数。

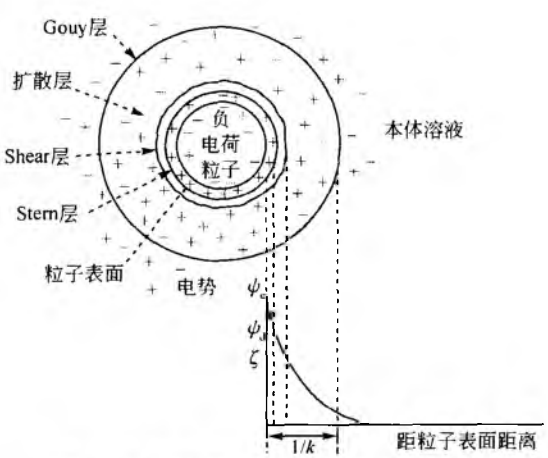


图 1　负电荷粒子表面的双电层及电场示意图

方法和仪器

1. 微量电泳

测定 zeta 电位最常用的方法是微量电泳法，即用显微镜观察单个粒子在已知电场影响下的运动情况。通过电泳速率用 Helmholtz Smoluchowski 方程计算出 zeta 电位：

$$U_p = V_p E = \zeta \varepsilon \eta \qquad (1)$$

式中：U_p 为电泳淌度；V_p 为电泳速率；E 为电场强度，ζ 为 zeta 电位；ε 为介电常数；η 为介质的黏度。

应当注意，电泳迁移是两方面结果的总和，其中一个是通过电泳槽的介质的电渗流。样品池的玻璃通常带有负电荷，因而扩散层的阳离子与它们相邻存在，这就在电泳槽中产生了电渗流（带有或不带有粒子）。由于与玻璃壁紧邻的流体层是静止的，因此渗透流在中心处具有最大值。电渗流的存在使通过电泳槽中心的粒子具有最大的速率增长。由于密闭小池没有静流液，由此产生了反向压力，使液体沿电泳槽中心流体的反方向流动。在稳定状态下，这些流动保持平衡，见图 2。因而准确测定介质中没有液流处的粒子运动就显得非常重要。图 2 描述的是圆柱形电泳槽中的液体。毛细管内相当于电泳槽直径 14.6%处的液体面流速为零。长方形电泳槽中液体面流速为零的位置也已被测得。当液体在电泳槽中的迁移相对长于电泳槽宽度时，液体流速为零的平面在距电泳槽底部相当于电泳槽高度 21.1%处并且在顶室之下。实验表明，样品槽中这些位置的粒子的迁移与电渗效应无关。

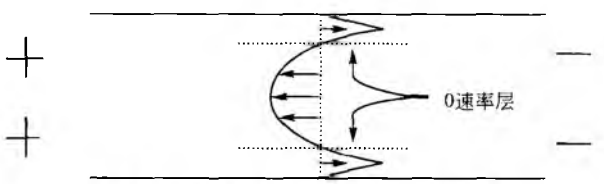


图 2　电泳小池中流体流动的速率断面图

粒子的迁移速度可以用秒表测定，即观测粒子通过显微镜目镜下校正标线之间距离所需的时间。为了获得好的统计结果，样品测定可能需要 30min 或更长时间。随着测量时间的增加，出错的可能性也会增加。比如测量时间长将会出现由于样品升温引起的热对流、气泡的形成、颗粒下沉和电极反应。如果测量能够足够快并且不失准确的话，

这些可能的错误可以被避免。Lazer Zee Meter（Model 50，1 Pen Kem，Inc）所用的旋转棱镜法允许操作者同时测定10个以上粒子，从而以更快的速度连续地获得数据，减少了时间依赖性错误。图3给出了旋转棱镜法的光路图[2]。显微镜聚焦于电泳槽的静止层（无液流），特殊的圆柱形光学元件将激光束压缩成一片照明激光，调节垂直高度使其与显微镜的聚焦平面一致，显微镜内的立方体棱镜使看到的图像的转移速率正比于棱镜的旋转速度，外加电场使粒子以正比于淌度和外加电压的电泳速度进行移动，调节电位计使正比于电位计电压的棱镜旋转速度与外加电压相吻合。当棱镜旋转引起的图像转变速率与平均电泳速率相等并且方向相反时，粒子云团表现为静止不动，外加电压因而正比于粒子的平均淌度。迁移值是通过数字计中合适的常数换成刻度来测量的，计算出的zeta电位显示3位数。

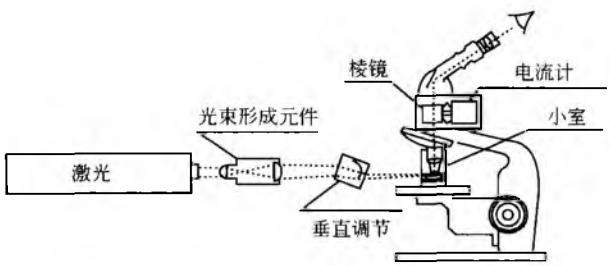


图3 显微电泳测量的旋转棱镜法光路示意图

尽管旋转棱镜法获得了重大进步，但在用显微电泳测定zeta电位时仍然存在明显的局限。首先，这个技术不适用于稠密的分散体系，也就是说粒子的密度值必须很低。有时可通过一定措施对此进行补救，将样品过滤得到滤液，取少量的原始分散体系，用大量的滤液稀释后测定，但这个补救方法并不适用于所有情况。第二，这个技术不能用于直径小于0.2μm的粒子，因为它们在超显微镜下不易被观察到，尽管通过吸附胶状粒子（如蛋白质分子）在可以适当扩大粒径范围。对于很小粒子的布朗运动所引起的模糊效应也是一个不能解决的问题。此外，微量电泳技术不能用来测定淌度分布或分离多模式的淌度分布。

2. 电泳光散射[3~5]

电泳光散射是通过测量散射激光的多普勒位移来测定电泳速率的技术。电泳淌度可用公式表达为

$$U_p = \Delta v \lambda_0 / 2nE\sin(\theta/2) \qquad (2)$$

式中：U_p 为电泳淌度；Δv 为多普勒位移频率；λ_0 为真空下激光的波长；n 为介质的折光率；E 为外加电场；θ 为散射角。由于氦-氖激光灯的频率约为 6.0×10^{14}，要测量微小的差别比较困难，所以直接测定0到几百赫兹的位移频率可能存在一些问题。然而这可以通过使用外差法原理来克服，即测量多普勒位移光和参比光之间频率的差值。

当粒子的布朗运动可以忽略时，由散射光的自相关函数引起的能谱具有很窄的峰。然而实际的光谱峰都有一定的线宽度，归因于粒子的布朗运动和电泳淌度的分布。区分这两种使光谱峰变宽的原因是非常重要的，因为如果没有这种区分，在单个角度测得的电泳淌度提供的信息只是关于峰的位置（多普勒位移）。峰的形状（多普勒加宽）可归因于两种影响之一，不能用单角度测定来解释。同时多角度测量是通过分析峰形给出电泳淌度的准确测定结果，接着根据 Helmholtz-Smoluchowski 方程计算出 zeta 电位。

DELSA 440（库尔特科学仪器）是一个激光散射粒子电泳分析仪，可用来测量电泳淌度分布和 zeta 电位分布（公式1）。该仪器能在四个角度同时测量线宽，因而可以精确地将粒子运动分解成两部分，即分别由电泳和扩散运动引起的粒子运动。粒子大小也能用同样的仪器与电泳淌度同时测定。图4是DELSA 440系统的示意图。其他以激光散射原理制造的商用电泳分析仪有 Zetasizer 3（Malvern 仪器），ZetaPlus（Brookhaven 仪器），System3000（PenKem 公司）和 NICOMP 380/ZLS（粒子大小系统）。

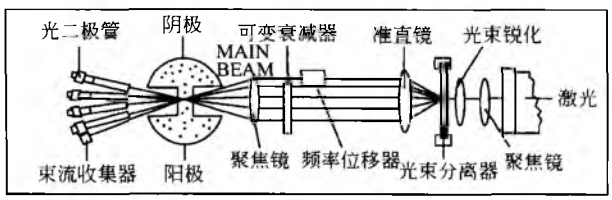


图4 DELSA 440 结构示意图

3. 电动音速分析[3,6,7]

当胶状分散体系遭受超声波时，分散相和连续相之间的密度差会导致粒子和周围液体发生相对运动。相对运动意味着粒子表面电荷和双电层中带相反电荷的离子间发生周期性交换。这个交换导致在外加超声波频率下交变偶极的建立。这个效应被叫做超声振动电位（UVP）。胶体中的UVP效应也被叫做胶体振动电位或CVP。与CVP效应相反的是，当交流电场施加于胶状分散体系时，依靠压电设备产生的声波可以转换为具有一定振幅的交流电压，振幅依赖于分散体系和双电层的性质，叫做电动音振幅（ESA）。这两个效应都被认为是电-声效应。这些效应的大小直接正比于粒子的电泳淌度。任何由电-声效应引起的淌度都称为粒子的动态或交流淌度。

由电-声效应决定的动态淌度与低频或直流淌度不同，后者是由电泳引起的，因为粒子的惯性作用使交流电场中粒子的速度与外加电场异相。电场频率越高，粒子落后于外加电场的相位越大。动态迁移率（U_d）是电场频率、粒子大小、粒子密度和粒子 zeta 电位的函数。这些惯性作用在 ESA 和 CVP 测定中都会发生。对于球形粒子并带有薄的双电层和低 zeta 电位的情况，可用下面的方程：

$$U_d = (\varepsilon\zeta/\eta)G(\alpha) \qquad (3)$$

式中：$G(\alpha)$ 为惯性项。除 $G(\alpha)$ 项外，动态迁移率公式等同于计算直流电泳淌度的 Helmholtz-Smoluchowski 方程。

ESA 或 CVP 振幅与悬浮粒子体积分数呈线性关系。在体积分数相对高时，流体和双电层间的相互作用导致这两个效应与体积分数不呈线性。当双电层厚度与粒子间空间相当时，通常可看到非线性行为。在大多数水相系统中，双电层相对薄于粒子半径，体积比达 10%时电-声信号与体积分数仍呈线性。当体积分数更大时，粒子间的相互作用会导致动态淌度减小。

用电-声效应测定 zeta 电位的商业化体系，以 AcoustoSizer 8000（Matek Applied Sciences）为代表，包括 5 个主要组成部分（图 5）。合成器产生连续的正弦曲线电压输入到门控放大器，正弦电压脉冲式通过含有分散体系的小池，产生的 ESA 声波被小池内的压力转换器转换为电信号，传到处理信号的电子装置。电子装置提取出 ESA 信号的振幅和相位，将它们存在 AcoustoSizer 的计算机内。

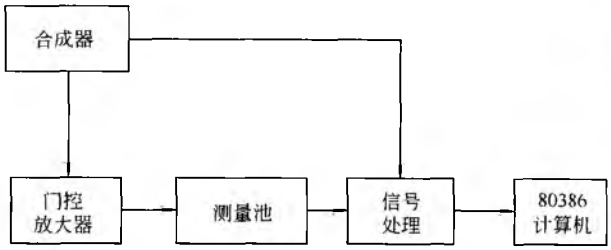


图 5　AcoustoSizer 信号处理模块示意图

小池的示意图见图 6。分散体系位于一对电极之间，来自门控放大器的脉冲式正弦电压通过这些电极，产生 ESA 声波。不用连续正弦电压是为了避免从电极发射出的声波的干扰。使用脉冲信号也能避免分散体系的电加热效应，

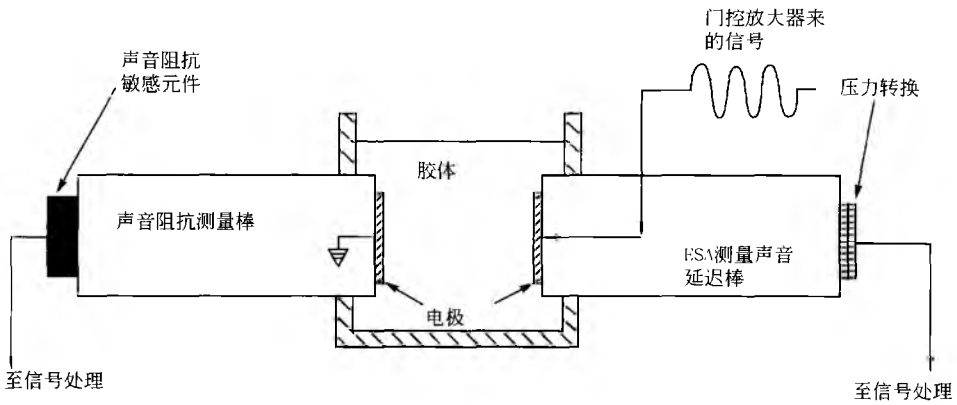


图 6　AcoustoSizer 测量池的结构示意图

避免声波在电极和测量棒的末端发生多次反射。右边转换器将由声波产生的电压脉冲传到处理信号的电子装置，测定脉冲的正弦波分量的振幅和相位。这些数据传入计算机保存用于以后处理。

由于 ESA 信号依赖于粒子的运动，也依赖于分散体系的声学性质，所以根据 ESA 信号来确定粒子的运动需要知道分散体系的声学阻抗。测定这个参数需要使用连接在左边测量棒上的传感器，在每次测定 ESA 后立即测定的。这两个棒上得到的信号被存于计算机，接着被转换为粒子-速度频谱，从而得到有关 zeta 电位和粒子大小的信息。AcoustoPhor 8000（PenKem 公司）是另一个用电-声效应测定 zeta 电位和粒子大小的商业化体系。

应用

zeta 电位测定的实际意义是基于这样一个事实，测得的系统 zeta 电位与系统静电界面现象显示的性质存在较强的相关性。由于 zeta 电位的测定比较方便，所以将其为常规实验中的一个理想参数。zeta 电位的控制已经被成功应用于各种技术领域，包括胶状和非胶状系统。

1. 胶体稳定性[3,8,9]

胶体系统的物理稳定性决定于排斥力与吸引力之间的平衡，可用 Deryaguin-Landau-Verwey-Overbeek（DLVO）理论进行定量描述。静电排斥力决定于双层的重叠程度，吸引力来自范德瓦尔斯作用力，二者都是粒子间分离的函数。人们早就认识到 zeta 电位可以很好地指示胶体粒子间排斥作用的大小，因此 zeta 电位通常被用来评估胶体系统的稳定性。

静电排斥能（V_R）指在粒子间距离给定时将粒子带到特定位置所需做的功。用 Debye-Huckel 低位能并假设两球体相等，则 V_R 可描述为

$$V_R = 2\pi\varepsilon\alpha\psi_d^2\ln(1+\exp[-\kappa H]) \qquad (4)$$

式中：α 为粒子半径；H 为两个粒子间分隔的距离；κ 为 Debye 参数。V_R 的数值随 H 增加而呈指数方式降低，随 κ 值增加［即增加电解液浓度和（或）反离子电荷数］而降低。V_R 也会受到其他特定因素的影响。反离子在 Stern 层的吸附可能导致电荷的逆转，因而在电荷逆转浓度时 V_R 为 0，高于和低于这个浓度 V_R 呈正值（排斥）。

胶体系统中粒子间的吸引力是粒子内所有原子对间伦敦色散力的总和。忽略延迟效应，两个半径为 α、相隔距离为 H_0（$\alpha \gg H_0$）的粒子间的吸引能 V_A 可表达为

Z

$$V_A = A\alpha 12H_0 \quad (5)$$

式中：A 为有效 Hamaker 常数，描述粒子和分散介质间的吸引力。显然，V_A 与粒子间距离平方呈反比。

根据 DLVO 理论，胶体粒子间相互作用的总能量是吸引能 V_A 和排斥能 V_R 的总和：

$$V_T = V_R + V_A \quad (6)$$

图 7（a）给出的是胶体系统总的作用能曲线。粒子间距离非常小时，毗邻电子云之间的波恩排斥力占优势，最终作用为排斥力。然而距离稍微增大，范德瓦尔斯吸引力超过了静电排斥力，最终作用力是强吸引力，即图 7（a）上深陷的位能最小值 V_P。距离再增大，最终作用力是中等吸引力（浅的第二最小值 V_S），因为随着两个粒子间距离增大，静电排斥力迅速减弱的速度大于范德瓦尔斯吸引力减弱的速度。在中间距离，静电排斥力占优势，最终作用力为排斥力，并显示能垒 V_m。

胶体粒子表面电位和双电层性质的改变不会使由范德瓦尔斯力引起的吸引能发生显著变化。相反，这两个参数的改变会对总作用能中的排斥能产生重要影响。因此距离较大时，静电排斥力的进一步增大导致总排斥力作用曲线中不会出现第二个最小值［图 7（b)］。然而当作用能中的排斥力减小时（也就是电解液浓度增加），作用曲线完全变为吸引力，并且胶体粒子发生快速聚沉（受粒子分散速率控制）［图 7（c)］。

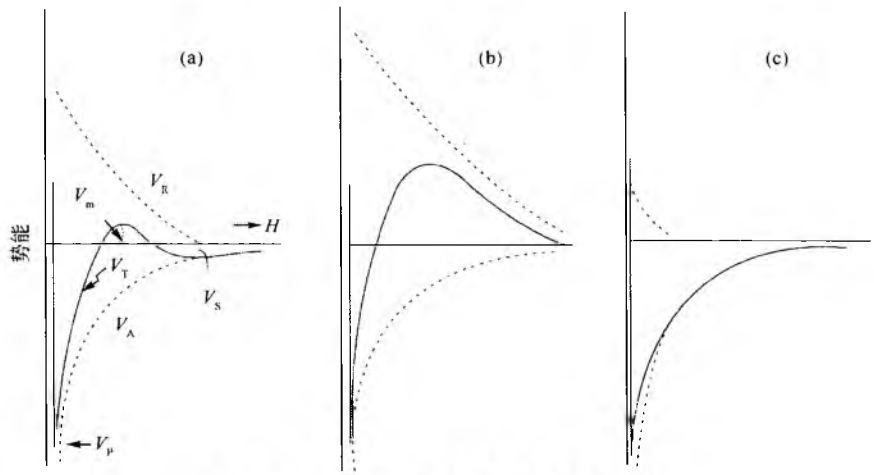


图 7 吸引能排斥能与粒子间距离的变化和两个胶体粒子的相互作用总能量

人们已经总结了多种体系中 zeta 电位和粒子絮凝行为之间的关系。Deryaguin[3] 认为，在满足以下条件时，系统的稳定性会迅速降低：

$$4\pi\varepsilon\xi^2/\kappa < A \quad (7)$$

对于一个给定的体系，A 和 ε 是固定的，因而由于改变电解液的类型和浓度而产生不稳定性与特定值 ξ^2/κ 有关。可用 zeta 电位描述粒子聚沉过程的有效性，因为它代表双电层扩散部分的电位特性，与双层重叠度有关，对聚沉过程起重要作用。当 zeta 电位足够高以致产生势垒抑制粒子聚沉时，聚沉速度减慢，可通过稳定比 W 来表示，其定义为总的粒子碰撞数和形成永久双粒子的碰撞数的比值。Wiese 和 Healy 报道，W 的理论值（从 zeta 电位计算得到）和 TiO_2 及 Al_2O_3 溶胶的实验值间有好的相关性，它是 pH 和电解液（KNO_3）浓度的函数（图 8）。由 pH 或 KNO_3 浓度的改变引起的粒子快速聚沉，发生在 $|\xi| \leqslant (14 \pm 4)$ mV 条件下，即 $\xi^2/\kappa = 6 \times 10^{-4}$ $(mV)^2 cm$。

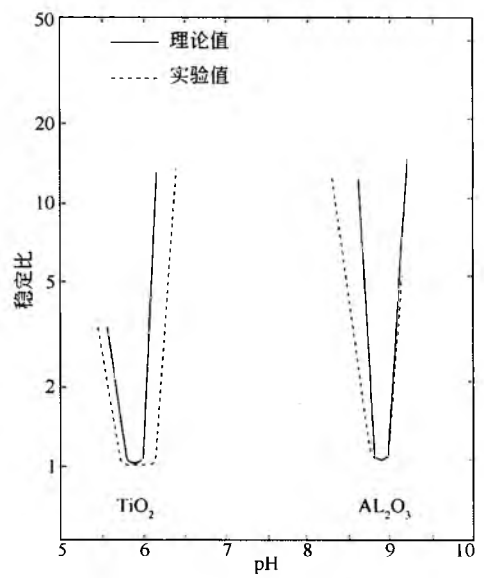


图 8 TiO_2（0.05g/L）和 Al_2O_3（0.15g/L）在 10^{-4}mol/L KNO_3 溶液中的胶体稳定性的理论值和实验值的比较

2. 药物系统

尽管依赖于分散相的粒子大小，大多数药物分散体系可以被归为胶体系统。因此，zeta 电位和胶体稳定性之间的理论或经验关系通常也适用于药物系统。但是实际应用时会有不同，因为它们的分散相和连续相的化学组成和物理状态存在差异。另外，由于产品的临床要求，比如给药方式和随之发生的体内处理不同，zeta 电位测定的实际意义也不同。

2.1 乳剂

乳剂已经被广泛用作口服、局部和非肠道药物传释的载体。尽管一个乳剂剂型的属性受到给药方式的影响，但我们通常关注的是体系的物理稳定性，尤其是分散相的聚集以及引起的粒径分布和相分层的改变。乳剂的稳定性主要决定于所用表面活性剂的化学组成。DLVO 理论指出，静电稳定性在含离子型表面活性剂的 o/w 型乳剂中起重要作用[11]。对于水相中电解液含量低的 o/w 型乳剂来说，zeta 电位达 30mV 已经足够建立最大能量（能垒）来保证乳剂的稳定性[11]。对于含非离子表面活性剂（聚合物）的乳剂来说，主要稳定性机制是油珠表面吸附的聚合物链之间的排斥力，称为空间稳定性[11]。这种情况下测定 zeta 电位对于评价乳剂稳定性的价值不大。

过去，在营养疗法中注射用乳剂主要是通过静脉注射给药为患者提供作为主要能源的植物油[12]。近年来，人们发现注射用乳剂对于水不溶性药物的非肠道传释是一个有效的载体[13]。出于毒物学的考虑，用于注射用乳剂的表面活性剂主要限于磷脂混合物，来源于鸡蛋的蛋黄磷脂或大豆的豆磷脂。大多数磷脂（80%～90%）是卵磷脂（PC）和磷脂酰乙醇胺（PE），它们在生理 pH 条件下不带电荷。但也存在少量（2%～5%）酸性成分，主要是磷脂酰丝氨酸（PS）和磷脂酰甘油（PG），它们在 pH7 时电离，赋予乳粒－40～－50mV 的表面电荷[14]，因此这些乳剂的稳定性主要归属于静电稳定性。任何改变表面电荷的因素都可能影响乳剂的整体稳定性。注射用乳剂中出现大于 5μm 的粒子即会导致乳剂不稳定，进而导致严重的临床后果，比如形成肺部栓塞[15]。因此对于注射用乳剂，用 zeta 电位测得的静电稳定程度是表征和监测其物理稳定性的重要参数。

已有的关于全营养混合物（TNA）使用的文献记载，其中大量信息是关于 zeta 电位的应用方面的[16]。全营养混合物是在给药前将脂肪乳和其他成分（如葡萄糖、氨基酸和电解液）混合在同一容器内。受组成成分的影响，混合物的稳定性变化很大，储存不同的时期后可能会出现临床不能接受的聚集现象。

考虑到乳剂的稳定性主要取决于其静电稳定性，因此加入到混合物的电解质（单价和二价）是破坏稳定性的主要因素。乳粒的 zeta 电位与电解质浓度和类别相关。乳粒和电解质（离子）间的相互作用有两类：特定的和非特定的吸附[16]。非特定吸附时，离子键合到乳粒只是通过双电层与表面电荷的相互作用。随着电解质浓度增加，zeta 电位渐近到零。随着静电排斥的减小，可以找到一点使范德瓦尔斯吸引力与静电排斥力相等，此时乳剂发生絮凝［图 9(a)］。这一点为临界絮凝浓度（CFC）。

根据 DLVO 理论，CFC 的改变应该与离子电荷的六次方呈反比。只应用 CFC 不能将 TNA 的稳定性与混合物中的电解质联系起来。因为二价离子（钙和镁）特定吸附在乳粒上是通过与酸性磷脂的阴离子络合实现的。图 9（b）表示了注射用乳剂中特定吸附离子的浓度和 zeta 电位及絮凝速度之间的关系。电解质浓度的增大导致粒子电荷经过零点，称为零电荷点（PZC），此时絮凝速度最大。电解质浓度进一步增大导致粒子表面电荷逆转，zeta 电位（异号）增大，絮凝速度也从最大值开始减小。

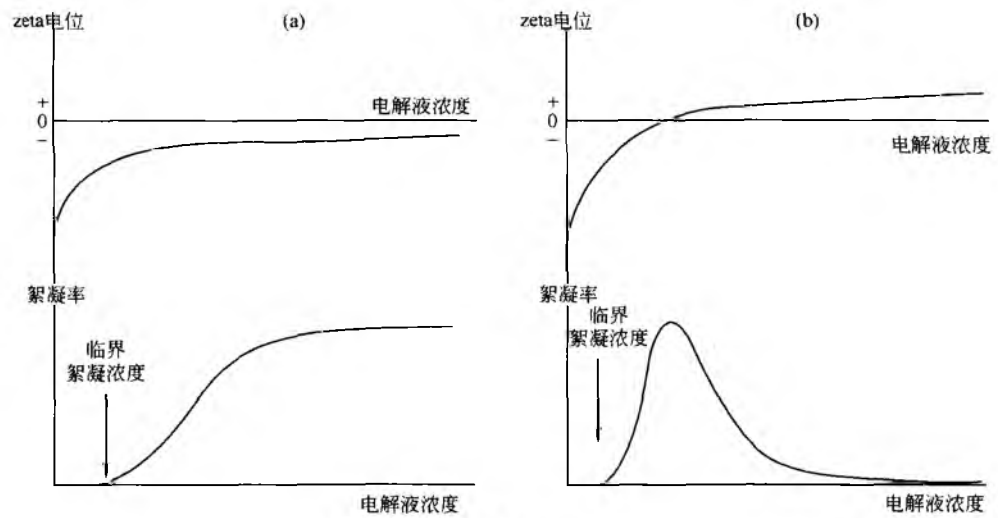


图 9 非肠道用乳剂中（a）非特异性吸附电解质和（b）特异性吸附电解质存在时 zeta 电位及絮凝速度之间的关系

Z

pH 对注射用乳剂稳定性的影响也可以通过测定 zeta 电位来获得（图 10）。pH7 时，离子化的 PS 和 PG 使乳粒表面带负电荷（－30～－50mV）。随着 pH 降低，离子化被抑制，直到 pH3.2 电荷变为零。pH 进一步降低导致磷脂质子化并出现正的表面电荷（正的 zeta 电位）。关于用磷脂作稳定剂的乳剂的静电动力学性质与它们受到其他 TNA 组分影响时的不稳定性的研究已取得重大进展[17,18]。华盛顿和他的同事们已经尝试建立以 DLVO 理论为基础的方法用于测定系统的 zeta 电位，从而建立一个模型预知 TNA 乳剂的稳定性[19]。

2.2 混悬剂

药物混悬剂是将固体粒子分散在悬浮介质或载体（通常是水性）中得到的体系。悬浮固体粒径小于 1μm 的体系是胶状悬浮体，粒径大于 1μm 的体系称为粗粒悬浮体。粗粒悬浮体中粒径的实际上限为 50～75μm。根据分散相和分散介质间的亲和关系或相互作用，胶状分散体可分为亲液（亲水性）或疏液（疏水性）两类[20]。

亲水性微粒固体在水中能自然分散形成热力学稳定体系，如胶状二氧化硅或微晶纤维素。疏水性固体在水中不易湿润也不能自然分散，如硫磺、黏土和大多数非极性有机化合物。由于促进其在水中分散的溶剂化作用较弱，在粒子间范德瓦尔斯吸引力的作用下会出现粒子聚集。因此疏水固体的水溶液分散体系只能通过保持动力学稳定来抵制粒子的絮凝和凝聚，可以用总作用能曲线（图 7）来描述。絮凝指的是粒子在第二最小值处的缔合，凝聚指的是粒子在第一最小值处的集聚。由于絮凝体系中粒子间的吸引力相对较弱，可以重新分散，即过程是可逆的。而凝聚则是不可逆的，因为在第一最小值处粒子间的吸引力很难被克服。

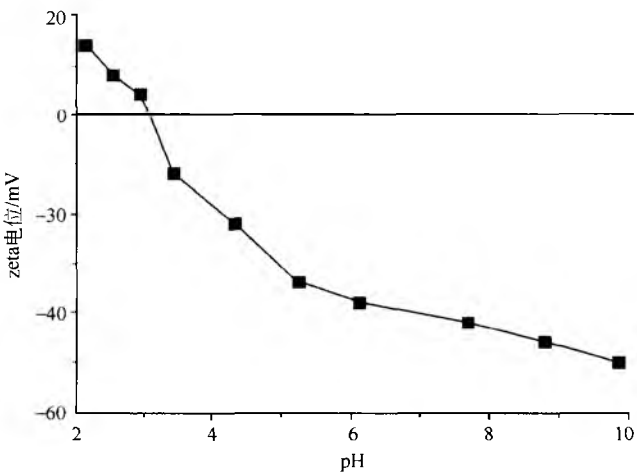


图 10 注射用乳剂中的 zeta 电位和 pH 之间的关系

当混悬剂中粒子间的静电排斥力占优势时，称为抗絮凝体系。对于 2～5μm 粒径的粒子，通过保持分散粒子的随机运动，即室温下的布朗运动能在一定程度上抑制粒子沉降，从而形成了关于沉降和絮凝的物理稳定体系[20]。然而，在抗絮凝体系中含有较大粒子（粗粒），它们的重力作用会抵消布朗运动从而发生沉降[21]，在容器底部形成紧密的沉降物，粒子间具有强吸引力，不易重新分散。这个现象称为结块。阻止结块已经成为制备稳定的粗粒悬浮体的主要目标[21,22]。尽管絮凝被认为是胶体的物理不稳定性的体现，但是絮凝悬浮体在制药方面还是被接受的，因为它们没有结块。在絮凝体系中，粒子互相吸引形成松散地絮状物（在第二最小值处），它们趋向于沉淀在一起，在沉淀物和上清液之间形成明显的界限，沉降后的絮状物中粒子容易重新分散。

控制絮凝的过程可通过向悬浮体中加入絮凝剂以实现有目的地产生粒子絮凝。减少粒子间静电排斥力是控制絮凝的最有效方法之一[21,22]。电解质被认为是有效的絮凝剂。在粗粒悬浮体中，测定 zeta 电位是监测和评估各种电解质对絮凝现象的影响的有效手段[23]。沉降体积 F 是沉淀物的体积和悬浮体起始体积的比值，对于测量悬浮体的絮凝程度是一个有用的参数。用一系列含有各种浓度磷酸二氢钾的碱式硝酸铋悬浮体进行实验获得 zeta 电位，结果表明，沉降体积和结块现象之间有良好的相关性（图 11）[24]。加入磷酸二氢钾部分中和了碱式硝酸铋粒子的表面正电荷导致 zeta 电位降低。随着 zeta 电位（正值）的降低，混悬剂开始絮凝但不结块，沉降体积增加。电解质浓度继续增大，使 zeta 电位降至零然后在负值方向增大，混悬剂保持絮凝状态直到 zeta 电位达到足够的负值实现系统的抗絮凝，如图 11 所示，沉降体积减小，结块趋势明显。

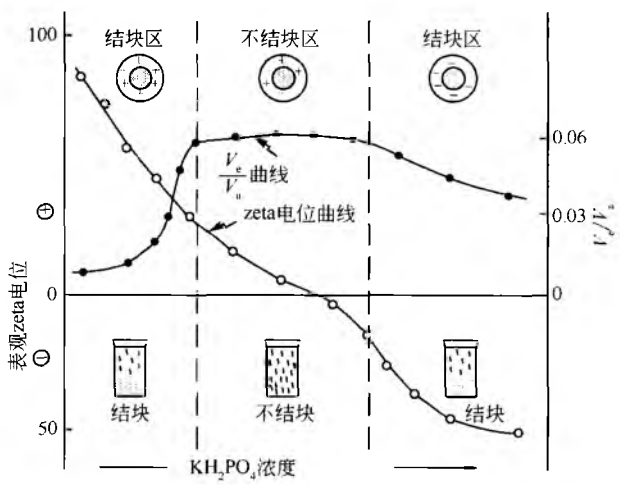


图 11 磷酸二氢钾絮凝剂对碱式硝酸铋混悬剂的絮凝影响

zeta 电位除能反映混悬剂的物理稳定性外，还能表示表面电荷特性与混悬剂性质间的关系。Heyd 和 Dhabhar 通过混悬剂中加入胶状聚合电解质［一种被称为硫化剂的角叉（菜）胶钠］，从而提高了高浓度抗酸剂悬浮体的流动性[25]。随着硫化剂浓度的增大，混悬剂的 zeta 电位从正值

变为负值，同时伴随混悬剂黏度的降低。关于黏度稀释现象，认为是带负电荷的硫化剂选择性地吸附在带正电荷的抗酸剂粒子上，赋予抗酸剂粒子以负电荷（如 zeta 电位所测），从而减少了对水的需求。

有关非水溶液混悬剂的 zeta 电位测定的报道相对较少，因为非水溶液混悬剂在药用混悬剂中仅占很小的百分比。Su 等对头孢唑啉钠在非水介质中的絮凝－抗絮凝行为进行了评估，考察了表面活性剂的作用，通过测量 zeta 电位，同时测定了沉降体积和多孔性[26]。他们观察到，粒子分散在花生油和乙烷基油酸酯中的 zeta 电位存在显著差异。加入卵磷脂明显减小了头孢唑啉钠的 zeta 电位，导致抗絮凝并伴随沉降体积的减少。表面活性剂对定量吸入用氟里昂中舒喘灵的 zeta 电位的影响已被测定[27]。尽管加入油酸会使粒子的 zeta 电位减小（更负），但是总的 zeta 电位太低不能保证体系的静电稳定性，尤其在低介电常数的介质中（有机溶剂）。

微粒药物传释体系包括微球和纳米粒，它们在液体介质中为混悬剂。微球是固体颗粒，包含的药物分散在溶液中或者呈微晶型式，粒径范围 1～1000μm。尽管大多数微球超出了传统胶体粒径的范围，但是在药学文献中粒径为 15μm 的微球仍被认为是胶体传释体系[28]。纳米粒与微球类似，但是粒径范围为 0.01～1μm，因此当它们分散在液体介质中时会形成胶状悬浮体[29]。测定 zeta 电位是一个重要的考察微粒表面性质的手段，它提供关于微粒体系表面电荷的信息。表面电荷（zeta 电位）对这些体系物理稳定性的影响（即集聚）可以用 DLVO 理论预测，尽管表面吸附的高分子的立体稳定性在体系中也扮演了重要角色。

当微球静脉注射给药时，表面性质的改变是一个重要参数，它影响到微球和体内其他生物组成之间的相互作用，以及随后发生的体内分布和处置[30]。Tabata 和 Ikada 报道，随着 zeta 电位绝对值的增加，巨噬细胞吞噬聚合物微球的作用增强，表面 zeta 电位为零的时候吞噬作用最小[31]。肝脾巨噬细胞吞噬的第一步认为是血液中带电血清成分被纳米粒吸收（促吞噬作用）。Muller 等通过测定血清中纳米粒的 zeta 电位来测定其促吞噬程度，并将这个作为选择静脉注射用药物载体以避免肝脾吸收的标准[32]。

2.3 脂质体

脂质体是基于磷脂制成的囊泡，将其作为将药物靶向到体内特殊部位的传释体系已有研究[33-35]。脂质体表面是带中性电荷、负电荷或正电荷，决定于所用的脂质。对于带电脂质体，它们的表面电位是影响其物理稳定性和体内作用的重要因素。zeta 电位经常被用来代替表面电位考察脂质体受表面电荷影响后的行为。脂质体在水溶液分散体系中有集聚趋势并在随后的储存中出现融合现象，其物理不稳定性潜在地限制了脂质体剂型的应用。

Crommelin 将电荷诱导的成分组合加入到脂质体双分子层中，使脂质体间产生静电排斥力，从而增加分散体系的保存期限[36]。他研究了包括硬脂醇胺、磷脂酰丝氨酸等对含卵磷脂-胆固醇的脂质体的 zeta 电位的影响。带负电荷的脂质体的凝聚稳定性与低、高离子强度下表面电荷密度的增量之间具有明显的相关性，但带正电荷的脂质体分散体系则是不稳定的。

Carrion 等[37]研究了添加磷脂酸对中性电解液中包含卵磷脂的大量单一薄囊状脂质体的 zeta 电位的影响，结果表明，增加磷脂双电层中磷脂酸的浓度导致 zeta 电位升高，并增强了脂质体的物理稳定性。关于二价离子（即钙离子）对带电荷脂质体的失稳效应已有记载，并归因于阳离子键合导致表面电位的减小[38～40]。

Mosharraf 等[41]研究了钙离子对由蛋卵磷脂和二棕榈酰卵磷脂组成的中性脂质体的集聚行为的影响。两个系统在去离子水中都呈现高的负 zeta 电位，可能是吸附羟基离子的结果。两种情况下，粒子大小增加和系统 zeta 电位的减小之间都有明显的相关性，表明集聚发生的机理与表面电荷特性有关。尽管早就确定由中性磷脂组成的脂质体是通过吸附阴离子而获得负的表面电荷的，但是 Makino 和他的组员发现，中性脂质体在不含氯离子的缓冲液中也呈现负的 zeta 电位[42]，他们还认为，是离子强度和温度的改变导致了中性脂质体 zeta 电位的负变，具体来说，是通过磷脂分子中带负电荷的磷脂酰基团与主要组成基团即带正电荷的胆碱基团间偶联改变导致的。

脂质体 zeta 电位对药物载体影响的研究提供了有关药物和脂质体相互作用的信息。Lawrence 等[43]报道了多黏菌素 B（一种多阳离子抗生素）在负电荷脂质体中的承载导致 zeta 电位下降，表明带正电荷的药物和带负电荷的脂质体双电层之间存在静电吸引力。研究发现，负电荷脂质体中药物的承载比正电荷和中性脂质体中要高，这进一步证明药物和脂质体之间存在相互静电作用。Beschiaschvili 和 Seelig[44]对环状生长激素抑制素类似物（一种带正电荷的多肽）结合到带负电荷的多层脂质体进行了研究，通过结合等温线和 zeta 电位的测定，描述了多肽和有表面分配常数的负电荷膜之间的分配平衡，认为绝大多数多肽分子插入主要基团区，极少数插入脂质体中心。

脂质体 zeta 电位的测定提供了关于其在体内发挥作用的有用信息，因为除粒径外，脂质体表面电荷也是影响其作用的一个重要因素，它决定了药物经非胃肠道给药后在常规循环和组织处理中的清除作用。大的多层脂质体从循环中被清除的速度比小的单层脂质体要快得多。在小的单层脂质体中，那些表面带负电荷的能被快速清除，而那些带正电荷或不带电的脂质体能在循环中保持较长周期[45]。Rahman 等[46]比较了包埋在正电荷和负电荷脂质体中的阿霉素对老鼠的药理作用和治疗作用，发现包埋在正电荷脂质体中的药物在心脏组织中吸收较低，因此对心脏的毒性较小。当脂质体作为靶向药物作用到淋巴结时，它们的表面电荷会影响淋巴对从皮下和腹膜处注射进的药物的吸收[47]。Patel 指出，负电荷脂质体定位于淋巴结的数量最多，其次是正电荷和中性的脂质体。腹膜内给药后，负电荷脂质体的排泄也比正电荷脂质体要快[48]。

Z

小结

测定 zeta 电位可以很好的表征胶体体系的特性。最初的认知来源于它能量化粒子间的静电排斥力，这是影响粒子行为和胶体体系物理稳定性的最重要因素之一。近年来，zeta 电位的概念被广泛用于除传统胶体科学和工业过程外的很多领域，并已经延伸到制药科学这个新领域。zeta 电位在这些领域的扩充归因于 zeta 电位测定仪器的发展、胶体药物传释体系的迅速发展和各学科相互间基础研究的重视。已经证实，胶体载药体系的 zeta 电位与其体外性质之间存在良好的相关性，zeta 电位对于药物在器官中分布和体内清除的影响也是我们研究的重点。

参考文献

1. Shaw, D. J. Introduction to Colloid and Surface Chemistry, 4th Ed.; Butterworth Heinemann Ltd.: Oxford, 1992.
2. Goetz, P. J.; Penniman, J. G. A New Technique for Microelectrophoretic Measurements. Jr. Am. Lab. Oct. 1976.
3. Hunter, R. J. Zeta Potential in Colloid Science, Principles and Applications, Academic Press: London, 1981.
4. Uzgiris, E. E. Progress in Surface Science, Pergamon Press: New York, 1981; X.
5. Oja, T.; Bott, S.; Sugrue, S. Doppler Electrophoretic Light Scattering Analysis Using the Coulter DELSA 440. Coulter Electronics: Luton, 1989.
6. O'Brien, R. W. J. Fluid Mech. 1988, 190, 71－86.
7. Babchin, A. J.; Chow, R. S.; Sawatzky, R. P. Electrokinetic Measurements by Electroacoustical Methods. Adv. Colloid Interface Sci. 1989, 111－151, 30.
8. Hiemenz, P. C. Principles of Colloid and Surface Chemistry, 2nd Ed.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1986.
9. Hirtzel, C. S.; Rajagopalan, R. Colloidal Phenomena, Advanced Topics, Noyes Publications: New Jersey, 1985.
10. Wiese, G. R.; Healy, T. W. Coagulation and Electrokinetic Behavior of TiO_2 And Al_2O_3 Colloidal Dispersions. J. Colloid Interface Sci. 1975, 51, 427－433.
11. Friberg, S. E.; Goldsmith, L. B.; Hilton, M. L. Theory of Emulsion in Pharmaceutical Dosage Forms: Dispersion Systems, Lieberman, H. A., Reiger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; I.
12. Wretlind, A. J. Development of Fat Emulsions. Parenter. Enteral. Nutr. 1981, 5, 230－235.
13. Davis, S. S.; Washington, C.; West, P.; Illum, L.; Liversidge, G.; Sternson, L.; Kirsh, R. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1987, 507, 75－88.
14. Washington, C.; Chawla, A.; Christy, N.; Davis, S. S. The Electrokinetic Properties of Phospholipid-Stabilized Fat Emulsions. Int. J. Pharm. 1989, 54, 191－197.
15. Burnham, W. R.; Hansrani, P. K.; Knott, C. E.; Cook, J. A.; Davis, S. S. Stability of a Fat Emulsion Based Intravenous Feeding Mixture. Int. J. Pharm. 1983, 13, 9－22.
16. Washington, C. The Stability of Intravenous Fat Emulsions in Total Parenteral Nutrition Mixtures. Int. J. Pharm. 1990, 66, 1－21.
17. Washington, C.; Athersuch, A.; Kynoch, D. J. The Electrokinetic Properties of Phospholipid Stabilized Fat Emulsions. IV. The Effect of Glucose and of pH. Int. J. Pharm. 1990, 64, 217－222.
18. Washington, C.; Connolly, M. A.; Manning, R.; Skerratt, M. C. L. The Electrokinetic Properties of Phospholipid Stabilized Fat Emulsions. V. The Effect of Amino Acids on Emulsion Stability. Int. J. Pharm. 1991, 77, 57－63.
19. Washington, C.; Ferguson, J. A.; Irwin, S. E. Computational Prediction of the Stability of Lipid Emulsions in Total Nutrient Admixtures. J. Pharm. Sci. 1993, 82, 808－812.
20. Zograft, G.; Schott, H.; Swarbrick, J. Dispersion Systems. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed.; Mack Publishing Company: Pennsylvania, 1990.
21. Hiestand, E. N. Theory of Coarse Suspension Formulation. J. Pharm. Sci. 1964, 53, 1－18.
22. Falkiewicz, M. J. Theory of Suspensions in Theory of Emulsion. Pharmaceutical Dosage Forms: Dispersion System, Lieberman, H. A., Reiger, M. M., Banker, G. S., Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1988; I.
23. Nash, R. A.; Haeger, B. E. Zeta Potential in the Development of Pharmaceutical Suspension. J. Pharm. Sci. 1966, 55, 829－837.
24. Martin, A.; Swarbrick, J. American Pharmacy, 6th Ed.; Lippincott: Philadelphia, 1966.
25. Heyd, A.; Dhabhar, D. J. Enhancing Fluidity of Concentrated Antacid Suspensions. J. Pharm. Sci. 1975, 64, 1697－1699.
26. Su, K. S. E.; Quay, F.; Campanale, K. M.; Stucky, J. F. Nonaqueous Cephalosporin Suspension for Parenteral Administration: Cefazolin Sodium. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1601－1602.
27. Clarke, J. G.; Wicks, S. R.; Farr, S. J. Surfactant Mediated Effects in Pressurized Metered Dose Inhalers Formulated as Suspensions. I. Drug/Surfactant Interactions in a Model Propellant Systems. Int. J. Pharm. 1993, 93, 221－231.

28. Burgess, D. J.; Hickey, A. J. Microsphere Technology and Applications. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc. New York, 1994; 10.
29. Kreuter, J. Nanoparticles. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1994; 10.
30. Wilkins, D. J.; Meyers, P. A. Studies on the Relationship Between the Electrophoretic Properties of Colloids and their Blood Clearance and Organ Distribution in the Rat. Br. J. Exp. Pathol. 1966, 47, 568—576.
31. Tabata, Y.; Ikada, Y. Effect of the Size and Surface Charge of Polymer Microspheres on their Phagocytosis by Macrophage. Biomaterials 1988, 9, 356—362.
32. Müller, R. H.; Wallis, K. H.; Tröster, S. D.; Kreuter, J. In Vitro Characterization of Poly (Methyl-Methacrylate) Nanoparticles and Correlation to their In Vivo Fate. J. Contr. Rel. 1992, 20, 237—246.
33. Riaz, M.; Weiner, N.; Martin, F. Liposomes in Theory of Emulsion. Pharmaceutical Dosage Forms: Dispersion Systems, Lieberman, H. A., Reiger, M. M., Banker, G. S. Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1989; 2.
34. Gregoriadis, G.; Florence, A. T. Liposomes in Drug Delivery. Drugs 1993, 45, 15—28.
35. Barenholz, Y.; Crommelin, D. J. A. Liposomes as Pharmaceutical Dosage Forms. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 1st Ed.; Swarbrick, J., Boylan, J. C., Eds.; Marcel Dekker, Inc.; New York, 1994; 9.
36. Crommelin, A. J. A. Influence of Lipid Composition and Ionic Strength on the Physical Stability of Liposomes. J. Pharm. Sci. 1984, 73, 1559—1563.
37. Carrion, F. J.; De La Maza, A.; Parra, J. L. The Influence of Ionic Strength and Lipid Bilayer Charge on the Stability of Liposomes. J. Colloid Interface Sci. 1994, 164, 78—87.
38. Düzgünes, N.; Sur, S.; Wilschut, J.; Bentz, J.; Newton, C.; Portis, A.; Papahadjopoulos, D. Calcium-and Magnesium-Induced Fusion of Mixed Phosphatidylserine/Phosphatidylcholine Vesicles: Effect of Ion Binding. J. Membr. Biol. 1981, 59, 115—125.
39. Hope, M. J.; Walker, D. C.; Cullis, P. R. Ca^{2+} and pH Induced Fusion of Small Unilamellar Vesicles Consisting of Phosphatidylethanolamine and Negatively Charged Phospholipids: A Freeze Fracture Study. Biochim. Biophys. Res. Commun. 1983, 110, 15—22.
40. Minami, H.; Inque, T.; Shimozawa, R. Aggregation Kinetics of Dimyristoylphosphatidylglycerol Vesicles Induced by Divalent Cations. J. Colloid Interface Sci. 1993, 158, 460—465.
41. Mosharraf, M.; Taylor, K. M. G.; Craig, D. Q. M. Effect of Calcium Ions on the Surface Charge and Aggregation of Phosphadylcholine Liposomes. J. Drug Target. 1995, 2, 541—545.
42. Makino, K.; Yamada, T.; Kimura, M.; Oka, T.; Ohshima, H. Temperature and Ionic Strength-Induced Conformational Changes in the Lipid Head Group Region of Liposomes as Suggested by Zeta-Potential Data. Biophy. Chem. 1991, 41, 175—183.
43. Lawrence, S. M.; Alpar, H. O.; McAllister, S. M.; Brown, M. R. W. Liposomal (MLV) Polymyxin B: Physicochemical Characterization and Effect of Surface Charge on Drug Association. J. Drug Target. 1993, 1, 303—310.
44. Beschiaschvilli, G. ; Seelig, J. Peptide Binding to Lipid Bilayers. Binding Isotherms and ζ-Potential of a Cyclic Somatostatin Analogue. Biochemistry 1990, 29, 10995—11000.
45. Juliano, R. L.; Stamp, D.; McCullough, N. Pharmacokinetics of Liposome-Encapsulated Antitumor Drugs and Implications for Therapy. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1978, 308, 411—425.
46. Rahman, A.; Kessler, A.; More, N.; Sikic, B.; Rowden, G.; Woolley, P.; Schein, P. S. Liposomal Protection of Adriamycin-Induced Cardiotoxicity in Mice. Cancer Research 1980, 40, 1532—1537.
47. Hawley, A. E.; Davis, S. S.; Illum, L. Targeting of Colloids to Lymph Nodes: Influence of Lymphatic Physiology and Colloidal Characteristics. Adv. Drug Delivery Rev. 1995, 17, 129—148.
48. Patel, H. M.; Boodle, K. M.; Vaughan-Jones, R. Assessment of the Potential Uses of Liposomes for Lymphoscintigraphy and Lymphatic Drug Delivery. Biochim. Biophys. Acta 1984, 801, 76—86.

（陈祝康 译）

索　引

A

阿拉伯胶　288，291，361，755
阿司帕坦　787，1487，2160
阿司匹林　1009
安瓿　640，2608
安培测定法　1871
安全性评价　2254
安装确认　620，1233，2425
氨基葡萄糖　1386
氨基酸结合反应　1835
氨基乙酸　365
凹坑腐蚀　2558
螯合剂　362，2608
奥氏成熟　1132，1135
奥氏体不锈钢　2562

B

巴氏灭活法　2617
巴西棕榈蜡　862
靶向给药　79，1996
靶向释放制剂　2018
白蛋白　365
版权　2627
半刚性容器　2608
半固体制剂　1，292，1124，2122
半胱氨酸　363，2608
半乳甘露聚糖　756
半衰期　901
包合技术　550
包合物　551，2021
包糖衣　2264
包衣　862，918，1488，2516
包衣锅　763
包衣锅包衣法　1421
包衣片剂　642
包衣丸剂　642
包衣微丸　289
包装材料　2464
胞饮　1258，1865
饱和弹性体　2466
保湿剂　292
背向散射电子　2500
被动靶向　2348
被动扩散　1257
被动转运　1864
本体降解　2674
苯丙氨酸　1806
苯酚　2608
苯甲醇　213，363，2160，2608
苯甲酸　292，1130
苯醌扭体分析　147
苯氧乙醇　292，1130
崩解　1261，2337
崩解剂　38，287，320，1012，1022，1039，2507
崩塌效应　442
鼻黏膜　1957
鼻腔给药　172，666，1861，1957，1961
鼻用溶液剂　654
比湿度　414
吡哆酸，　1516，1519
蓖麻油　2608
壁喷流池　1873
编码混合合成　1936
变更控制　914
变态反应　1727
标准操作规程　282
表观分布容积　900
表观分配系数　2014
表面等离子共振　932
表面活性剂　135，292，766，836，838，919，1129，1681，1868，2146，2608
表面活性剂凝胶　2119
表面溶蚀　2675，2677
表面张力　554，1681
表面自由能　1681
冰点降低法　554，2382
丙氨酸　365
丙二醇　213，230，291，1062，1131，1459，2608
丙二酰硫脲法　2653
丙交酯-乙交酯共聚物　758，994
丙三醇　290
丙烯酸　2004
病毒灭活　2613
病毒验证实验　2615
病例报告表　890，891
玻璃　1646，2094
玻璃化转变　767，883，2673
玻璃混悬液　428
玻璃溶液　428
玻璃纤维材料　518
泊洛沙姆　376，985，1130
薄层池　1873
薄层色谱　554，1150
薄膜包衣　762，2265，2450
薄膜挤出　611
薄膜渗透性　766
不饱和的弹性体　2466
不分流进样　1174
不均一成核　683
不可见颗粒　2091
不可逆的药理应答　1780
不锈钢　2562，2568

C

参比电极　1870
残留溶剂　355
操作认证　853
草药　1381，2244
草药疗法　2244
层流　25
层流净化台　23
层流设备　23
层流生物安全工作柜　24
搽剂　291，647
差热分析仪　880
差示扫描量热法　865，880，1071，1715，2117
差示扫描量热仪　880

拆分 2291
掺入 6
产品处方设计专家系统 2359
产品研发 1673
铲角 436，438
长期稳定性 1067
肠代谢 899
肠道给药 1862
肠道外给药 1860
肠肝循环 1261
肠腔代谢 2015
肠清除 899
肠溶包衣 663，2019
肠溶材料 764
肠溶衣 2004
肠溶制剂 645，1124
场发射扫描透射电子显微镜 2501
超奥氏体的不锈钢 2563
超级崩解剂 38
超临界流体 392，426，1246
超滤 517，1752
超声波均质机 739
超声波喷雾器 2279
超声波雾化器 51
超声促渗 190，704
超声激活型给药系统 1993
超声振动电位 2684
超速离心法 671
潮解 1711
沉淀滴定 99
沉淀剂 652
沉降技术 744
承包生产 58
迟发型过敏反应 1972
充气堆密度 437
冲洗剂 654
虫胶 290
初级代谢产物 1794
储存期 1065
处方前研究 1018
处方设计 2359
处方药 66，264，544
处方优化 2664
触变流 588
触变性 2443
传热机制 410
创伤敷料 1218，1346
吹瓶-灌装-封口 1444，1476
吹塑成形 611
纯化水 2089
磁激活型给药系统 1993
雌激素 2651
次生代谢产物 1794
刺激试验 151，1738
促进扩散 1258
促销 66
促氧化剂 2648
醋剂 656
醋酸纤维素 518

D

大容量注射剂 2606
代谢 802
代谢物 73
代谢抑制剂 2021
单变性 1075，1763
单氟磷酸钠 1592
单光子发射计算机断层成像术 254
单剂量给药装置 1960
单颗粒光学测定器 143
单克隆抗体 79，1238，1240，1242，2343
单螺杆挤出机 610
单元操作 410，2176，2198
单轴剪切测试仪 442
胆固醇 861
胆酸 861
弹性模量 2441
弹性体 2464，2565
弹性体评价 2470
蛋白结合 901
蛋白稳定剂 2093
蛋白质 171，968，1356
蛋白质多肽 200
蛋白质学 494
蛋白质组学 1238
氮磷检测器 1173
氮酮 1459，1868，1970
道尔顿定律 2375
等价制剂 1821
等张性 2092
低黏附衬垫 1221
低温变性 829
低温火焰光度法 593
低压供电 2553
滴鼻剂 219，291，1958
滴定 99
滴耳剂 291，640
滴剂 644
缔合胶体 670
点样 1151
电池电位 2560
电磁辐射 506
电导滴定 106
电导检测器 1167
电感耦合等离子体 492
电化学 1704
电化学腐蚀 2558
电化学检测 1870
电化学检测器 1167
电化学免疫测定 1877
电化学免疫分析法 956
电解电导检测器 1175
电力负载 2552
电流滴定 108
电脉冲 188
电抛光 2566，2569
电迁移 869
电渗 869
电渗析 188
电位 117
电位测定技术 1870
电位滴定 105，554
电位分析 117
电位免疫测定法 1877
电泳法 554
电泳光散射 2684
电致孔 190，869
电子捕获 251
电子捕获检测器 1173
电子记录 618，1454
电子脉冲计数法 671
电子签名 618，1454
电子数据 618
电子顺磁共振技术 274
电子文档 1449
电子显微镜 2500
电子效应 555
电子制药信息报道 2132
淀粉 111，288，289，435，983，2338，2420，2672
淀粉浆 288
淀粉衍生物 114
丁基胶 2465
丁基羟基茴香醚 2608
耵聍制剂 225
酊剂 291，655，2250

顶空分析　1178
顶空氧分析　1702
定量阀　136
定量结构-毒性关系　1939
定量气雾剂　293
定量溶液吸入器　2284
定量吸入剂　133，335，388，1686，2235，2276
定量吸入器　2280
定量限　1169
定位给药系统　2039
锭剂　129，289，648，656，1471
动脉内给药　1860
动态纯竞争　1603
动态淬灭　477
动态光散射法　671
动态黏度　2441
动态热机械法　1074
动物模型　146，2080
冻干　320，827，2522
冻干保护剂　836，840
冻干成形剂　365
冻胶　859，976，1144
毒理基因组学　1938
毒性反应　1727
断层成像仪　254
堆密度　437，2267
对苯甲酸酯和氯甲酚　1130
对二氧环己酮和聚丙二酸丙二酯共聚物　758
对二氧环己酮和聚对苯二羟乙酸乙二酯共聚物　758
对二氧环己酮和吗啉-2,5-二酮共聚物　758
对羟基苯甲酸酯　292，363
对映体过量　1289
对映异构体　1082，2291
钝化　2566，2570
多层片　289
多级液体撞击器　53
多晶型　698，838，883，1019，1075，1262，1763，1865
多聚乙酰化合物　1797
多克隆抗体　2343
多孔包衣锅　763
多态现象　1763
多肽　171，968，1356
多肽蛋白质　1374，2672
多糖　2672
多药治疗　812

E

儿茶酚　2651
儿科用药　207，293
耳部给药　219
耳用制剂　224，1062
二次电子　2500
二次电子显微镜　2501
二次干燥　833
二丁基羟基甲苯　362，1131
二甲基亚砜　1062，1459
二甲基乙酰胺　2608
二甲基乙酰胺　1062
二甲醚　134
二巯丙醇　275
二氧化硅　435
二氧化钛　290，765

F

发光淬灭　477
发射光谱法　492
法拉第技术　1871
翻滚　233
翻转混合器　232
翻转熔融制粒　781
凡士林　1，292
反触变性　2443
反回扣　71
反基因疫苗　2310
反馈调节型给药系统　1995
反渗透　517
反相色谱　1164
反絮凝剂　589
反义　1238，1240
反义探针　1435
芳香剂　292
防腐　1470
防腐剂　10，291，292，363，732，788，836，919，1130，1659，2092，2608
防腐剂效力测试　16，18
防黏剂　320
仿制药　245，2639
放射化学纯度　255
放射免疫测定　256
放射免疫分析　1251
放射性标记　2235
放射性标记的免疫测定　950
放射性核素纯度　255
放射性化学分析　249
放射性衰变　250
放射性同位素　249，1795
放射性药物　255，1466
飞行时间粒径分析仪　747
非处方药　66，259，385，544
非环糊精　272
非计划性偏差　915
非均相电流免疫测定法　1877
非临床研究质量管理规范　280
非牛顿流体　2442
非色散型光谱仪　454
非线性药代动力学　903
非线性药物清除率　903
肺部沉积试验　2238
肺部给药　138，173，198，335，388，399，666，1963，2271
分布　801
分层　236，1132
分剂量散剂　652
分离强度　239
分流进样　1174
分配系数　297
分散程序　1006
分析方法的定量限　305
分析方法的范围　305
分析方法的检测限　305
分析方法的精密度　305
分析方法的耐用性　306
分析方法的线性　305
分析方法的验证　303
分析方法的准确度　305
分子力学　626
分子模型　623
分子印迹高分子　932
分子蒸馏　2200
粉剂　229，652
粉末剂　1471
粉末流动性　331
粉末取样　338
粉末上药法　2454
粉末填充　2334
粉末吸入装置　401
粉末制剂　333
粉碎　2208
粉体　432
粉体流变仪　442
风化　1711

缝隙腐蚀 2558
敷剂 640
敷料 1221
伏安法 1871
伏安法分析 596
伏安检测法 1875
氟橡胶 2465
辐射灭菌 998，2212
腐蚀 2557
负荷剂量 905，1779
复合 272
副作用 1727
赋形剂 320，355，360，2156
赋形剂的安全性 355，375
傅里叶转换红外光谱 454，1717
富马酸 1009
腹腔内给药 1862

G

改进气体环境包装法 1702
盖仑制剂 638
干法制粒 1011，2486
干法制粒压片 1040
干粉气雾剂 1966
干粉吸入剂 293，322，335，388，399，2235
干固体填充 2336
干凝胶敷料 1223
干扰素 1242
干热灭菌法 405，2212
干糖浆 2512
干燥 410，830，2204
干燥器 2206
干燥稳定剂 840
甘氨酸 836
甘氨酸碳酸钠 1010
甘草单铵盐 1487
甘露醇 288，289，365，828，836，1487，2420
甘油 1062，1131，1487，2608
甘油单硬酯酸 292
甘油剂 646
甘油凝胶剂 646
甘油酯 862
肝清除 1755
感温型水凝胶 1349
刚性 980
高岭土 287
高通量筛选 1238，1241，1937
高通量有机合成 1937
高温火焰光度法 595
高效空气粒子过滤器 161
高效粒子空气过程器 23
高效液相色谱 74，554，1162，1248
高压供电 2554
高压均质机 735
膏剂 651
隔离装置 2229
给药方案 905，1777，1783
工序能力 1394
工序实现指数 1398
工序位移指数 1398
工序中央指数 1398
工艺放大 847
工艺放大和产品批准后的变更 422，1266
工艺验证 2424
工艺优化 2662
供电和分支电路的规划 2554
共沉淀 426
共聚物 1981，2672
共溶剂 290
共熔体 860
共熔物 426
共蒸发物 426
枸橼酸 1008
构象多态现象 1764
构象异构体 2290
构象异构现象 2294
构效定量关系 630
孤儿受体 1945，1950
谷氨酸钠 1487
谷胱甘肽结合反应 1834
骨架系统 289
固定相 1151，1163，1176
固态检测仪 252
固态溶液 427，860
固体分散体 426，860，864，1687
固体干燥工艺 415
固体剂型 432，2121
固体溶液剂 1866
固体脂质纳米粒 294
固体制剂 287，762，779
寡聚核苷酸 1431
寡聚体 1431，1433
管制容器 1653
惯性撞击分析器 142
灌肠剂 291，644，2078
灌洗剂 643
光电二极管阵列检测器 1167
光毒性试验 1744
光度滴定 109
光解作用 1771
光敏化 1771
光敏剂 1771
光谱带宽 511
光谱法 492
光谱分辨率 511
光谱分析 450，461，466，475，488，494
光吸收 506
光学异构体 2291
光致电离检测器 1175
光子校正光谱 748
广告 66，266
归一化法 1178
硅胶 2465
硅酸镁锂 292
硅酸镁铝 288，292
硅酮敷料 1225
硅橡胶 2051
癸二酸二丁酯 765
癸二酸和二-(4-羟基苯甲酸)-1，3-丙烷的共聚酸酐 759
4-癸基唑烷-2-酮 1970
1-[2-(癸硫基）乙基] 吡咯烷-2-酮 1970
滚压法 2486
滚压机 2489
滚压制粒 2486
国际协调会议 1065，1636
国际药典 1277
国际药学文摘 2132
国家处方集 385
果胶 757，983
果糖 1487
过饱和度 679，717
过程控制 913，2550
过孔流动 436
过滤 1479，2202
过滤灭菌 1669
过滤器 24，517，520，2203
过敏反应 1727
过氧化 2646

H

海藻酸 288，756，982

海藻酸钙敷料　1223
海藻酸钠　288，292
海藻酸盐　2672
海藻糖　365，840
氨离子化检测器　1175
含漱液　291
焊接　2565，2570
合并　1132
合剂　648
核磁共振　275，554，630，1717，1795，2528
核磁共振光谱学　1767
核苷　1431
核苷酸　1431，1816
核酸适体　931
核心流　434
黑升麻　1384
亨利定律　2376
红铁粉　2567
红外光谱法　450，865
槲皮苷　2651
糊剂　5，292，648，1473
琥珀酸　861
互联网　69，2134，2548
互认程序　1006
花生油　2608
滑动角　436
滑石粉　287，289，435，765
滑移　233
化学发光　932
化学发光测量法　2653
化学发光免疫分析　956，1251，1252
化学放大　1877
化学降解　2670
化学位移　2529
化学文摘　2132
化妆品　544，547，2122
还原　1832
环糊精　376，550，562，1459，2161，2301
α-环糊精　552
β-环糊精　552，559，755
γ-环糊精　552
环-模具颗粒磨　612
环氧乙烷-环氧丙烷共聚物　754
环氧乙烷灭菌　2212
缓冲剂　364，788，2093
缓冲盐　291
缓释制剂　289，429，864，1123，1124
黄蓍糖　755
黄原胶　756
磺化反应　1834
磺酸环糊精　560
回顾性验证　2424
混合　233，331，391，700，1036，2209
混合机　2211
混悬剂　291，583，654，721，1472，1685，1866，2122，2266，2450，2688
混悬注射剂　2090
活度系数　2136
活化分析　255
活化极化　2560
活化剂　2466
活性药物成分　2431
火棉胶　642
火焰法　488
火焰光度法　593
火焰光度检测器　1175
火焰离子化检测器　1173

J

机械分散装置　1958
机械力激活型给药系统　1992
肌肉给药　1861
肌肉注射　208，217，1059，1256，1301
基因　1434，1795
基因缺陷型疫苗　2309
基因学　494
基因治疗　1238，1240
基因组　1431
基因组学　1240，1939
基质效应　490
激光散射　2117
激光衍射法　53
激活调控型给药系统　1989
激素　1241
极谱分析　596
即可用胶塞（RtU）　2468
急性毒理　149
急性毒性试验　1738
集中程序　1006
几何异构体　2293
挤出　606
挤出滚圆法　2457
挤压包衣技术　2040
挤压喷雾剂　1958
计划性偏差　915
计算化学　624
计算机　75，283，1453，1921，2359，2543
计算机断层摄影术　2235
计算机辅助药物设计　623，630
计算机系统的验证　618
计算机系统验证　895
技术转让计划与报告　915
技术转移　856，2427
技术转化　2434
剂量的确定　1777
剂量-应答关系　1780
剂型设计　661
加压包衣片剂　2040
颊和舌下途径给药　2033
甲基化反应　1835
甲基化环糊精　560
甲基纤维素　292，755，984，1130
间接的药理应答　1780
检测限　1169
剪切变稠　2442
剪切变稀　2442
剪切池　440
减毒活疫苗　2308
简单低共熔混合物　427
简单凝聚　993
简单蒸馏　2200
简谐波　2555
简要新药申请　382
桨法　1120
交叉耐受性　1930
交叉设计　1790，1825
交叉依赖性　1930
交互式语音（IVR）系统　2548
交联聚维酮　39，288
交联羧甲基纤维素　2338
交联羧甲基纤维素钠　38，288
胶浆剂　648
胶囊　290，320，641，1471，1866，2332，2333
胶囊型脉冲制剂　2043
胶凝点　979
胶乳敏感性　2472
胶塞的表面改性　2473
胶塞的灭菌　2468
胶束　2147
胶束化　785

胶体 669，2685
胶体剂 291，822
胶体矿物 670
胶体磨 738
胶体释药系统 673
胶原 981，2672
胶原敷料 1225
胶原罩 2049
胶质 755
焦亚硫酸钠 2608
角叉菜胶 147，982
矫味剂 291，292，787，1012，1481
接触角 1682，2048
洁净室 34
结肠定位给药 1366，2000，2019
结构异构体 2290
结合反应 1833
结合水 1711
结晶 679，717，882，2202，2483
结晶度 883，1537
结晶溶剂 717
颉草 1388
解吸 1711
金属氧化物半导体场效应晶体管 1872
近红外光谱 461，695
近紫外 1287，1288
浸膏剂 645
浸渗敷料 1224
浸析 2213
浸渍 2213
禁食 1607
经皮给药 219，704，1350
经皮控释治疗系统 1982
经皮脉冲离子导入系统 1993
晶核形成 680，682
晶粒间腐蚀 2559
晶癖 663，715
晶体 686
晶型 686，2483
精氨酸 365
精馏 2200
精密度 1168
精确性 1404
径向分层 236
竞争性方式分层 237
静脉滴注 1256
静脉给药 214，965，1861，2606
静脉注射 1059，1256，1302
静脉注射液塑料容器 2608
静态淬灭 477
静态流动 436
酒剂 656
酒石酸 289，1008，1487
局部释药 1598
咀嚼片 289
锯草 1387
聚（1，3-二对羧基苯氧基丙烷） 2675
聚 D，L-丙交酯 2670，2672，2674
聚 L-丙交酯 758
聚 L-丙交酯-乙交酯共聚物 758
聚氨基酸 2672
聚氨酯胶 2465
聚丙交酯 994
聚丙烯酸 754，755
聚丙烯酰胺 754，755，756，986
聚对苯二甲酸 2675
聚对苯二甲酸酐 758
聚对二氧环己酮 758
聚对二氧环己烷 758
聚二甲基硅氧烷 1012
聚二氧环己酮 2672，2674
聚富马酸 2675
聚癸二酸 2675
聚癸二酸酐 758
聚合酶链式反应 1238，1241，1431，1433
聚合膜、骨架联用型给药系统 1984
聚合物骨架型扩散控释给药系统 1983
聚合物膜控型给药系统 1981
聚合物泡沫敷料 1222
聚环氧乙烷 754，755
聚集多形态 1764
聚己内酯 758，2050，2672，2674
聚甲基丙烯酸酯 290，764
聚甲基氰基丙烯酸酯 757
聚间苯二甲酸 2675
聚赖氨酸 754，755
聚磷酸酯 2672，2678
聚膦腈 2672，2677
聚膦酸酯 2672，2678
聚醚砜 518
聚醚酯 757
聚偏二氟乙烯 518
聚羟基丁酸酯 757，2672，2674
聚羟乙基丙烯酸甲酯 754
聚 β-羟乙基甲基丙烯酸酯 755
聚羟乙酸 376
聚乳酸 376，2050
聚三亚甲基-二对氧苯甲酸酐 758
聚山梨酯 292，838，1142，2608
聚四氟乙烯 518
聚酸酐 376，2050，2672，2675
聚碳酸丙二酯和乙交酯共聚物 758
聚糖酐敷料 1223
聚烷基氰基丙烯酸酯 2050
聚酰胺 2672
聚亚磷酸酯 2672，2678
聚氧乙烯（PEO）聚合物 861
聚氧乙烯蓖麻油 EL 361
聚氧乙烯山梨醇单油酸酯 2608
聚乙醇酸 2050
聚乙二醇 289，360，365，765，861，1011，2608
聚乙二醇甘油酯 862
聚乙交酯 758，2670，2672，2674，
聚乙酸乙烯酯 290
聚乙烯 290
聚乙烯吡咯烷酮 288，361，365，755，764
聚乙烯醇 289，754，755，986，2049
聚异戊二烯胶 2465
聚原酸 2672
聚原酸酯 2050，2676
聚酯 2670，2672，2674
绝对生物利用度 1821
均聚物 2672
均相电流免疫测定法 1877
均一成核 682
均匀腐蚀 2558
均匀系数 438
均质化 735

K

卡波姆 985
卡瓦胡椒 1386
抗坏血酸 2608
抗坏血酸盐 363，2649
抗黏剂 765，919，1687
抗凝剂 919
抗体 2343
抗体片段 2343
抗压试验 768
抗氧剂 291，362，788，1131，2093，2466，2645，2647，2608
抗药抗体 931
抗原性试验 152

抗原致敏性试验 1744
抗肿瘤药 275
颗粒剂 287，646，1471
颗粒磨 612
壳多糖 757
壳聚糖 274
可见-紫外光谱 275
可可脂 293
可生物降解聚合物 2670，2672，2674
可生物吸收聚合物 754
克隆 1239，1949
空调 2200
空间效应 554
空气动力学直径 200，747，2276
空气压力喷雾器 2272
空气助流式滚圆机 2458
空腔腐蚀 2558
空腔泡沫敷料 1222
控释制剂 1123，1867，1981，1984，2016，2079
口服给药 171，216，333，968，1062，1299，1356，2012，2324
口含片 289
口腔给药 666，1861
口腔黏膜给药 172，1369，1374，2030
库仑滴定 107
扩散试验 522

L

拉紧 1681
蜡 290，792
蜡剂 642
赖氨酸 1805
篮法 1119
老年人用药 294，801
酪氨酸 1806
雷诺数 2178
类胡萝卜素 2648
类黄酮 2651
类维生素 A 2649
类脂 816
类脂剂型 821
类脂质体 1973
冷冻断裂技术 2115
冷冻干燥 680，827，847，1423，2207，2090
冷冻制丸法 2460
冷却 859
冷霜 292
冷原子法 489
离浆 980
离散变量 1404
离析 332
离线清洁 1229
离心 234
离心过滤 2204
离子导入 188，869
离子导入激活型给药系统 1993
离子对 2021
离子对色谱 1165
离子感应场效应晶体管 1872
离子激活型给药系统 1994
离子交换 2574
离子交换色谱 1165
离子交换树脂 1488
离子色谱 1165
离子选择性电极（ISE） 1872
理论塔板数 1163，1172
立体构型异构 2290
立体化学转化 1836
立体异构 1310
粒径分布 331，742
连续变量 1404
量子力学 625
料斗设计 435
邻苯二甲基醋酸纤维素 290，755，756
邻苯二甲酸醋酸纤维素酯 764
邻苯二甲酸二乙酯 765
邻苯二甲酸聚乙烯乙酸酯 764
邻苯二甲酸羟丙甲纤维素酯 764
临床试验药品 911
临床数据管理系统 889
临床研究 1788
临床药代动力学 896
临床用药品 911
临界胶束浓度 1681
临界相对湿度 1890
磷光 475，476
磷酸二钙 288
磷酸硫化寡聚核苷酸 1431
磷酸钠 1009
磷酸氢钙 2420
流变学 606，980，2440
流出角 436
流动度 2441
流动相 1151，1166，1169
流动性 432，2337
流动注射再生的表面免疫测定法 933
流化床 763，917
流化床包衣 862
流化床干燥 416
流化床干燥机 1038
流化床制丸 2455
流计数器 748
流浸膏剂 645
流能磨 585
流体动力伏安法 1872
流体动力学压力激活型给药系统 1991
流体流动 2176
流体学 2117
流通池法 1122
流延薄膜 611
硫化促进剂 2466
硫化剂 2466
硫化学发光检测器 1175
硫唑嘌呤 273
漏斗流 434
卤丁基胶 2465
滤网截留和吸附络合截留 520
露点 2201
绿茶 1386
氯丁胶 2465
氯化钠 288，365，836，1487
氯化钠当量法 2382
氯甲酚 292，363
卵磷脂 292，361，376，1503
络合滴定 104
络合法 275，2608
络合作用 550

M

麻黄 1386
马丁德尔大药典 2131
马氏体钢 2562
吗啉寡聚体 1431
麦芽糊精 114
麦芽糖 365
脉冲给药系统 2039
漫反射光谱 466
莽草酸 1798
毛细管电泳 1252
毛细管电泳免疫测定法 933
没食子酸丙酯 363
酶 1795
酶电极 1876

酶反应器 1875
酶激活型给药系统 1994
酶解型聚合物 2005
酶联电化学技术 1875
酶联免疫测定法 923，929，952
酶联免疫吸附测定法 923
酶联免疫吸收分析 1251
酶血液凝聚因子 1243
酶增殖免疫测定技术 1877
美国药典 16，385，1065，1467，1632，1654，1665，1710，2131，2166，2573
美国专利和商标局 2133
蒙脱石黏土 986
密度 2267
棉籽糖 840
棉籽油 2608
免疫测定法 923
免疫电极 1877
免疫调节 2316
免疫毒性试验 1746
免疫放射分析法 951
免疫分析 950，1251
免疫结合物 2344
免疫微球 2351
免疫脂质体 2349
灭菌 1470，2212
灭菌后可用胶塞（RtS） 2468
灭菌注射用水 2608
明胶 288，289，365，754，757，982，993，1142，2332，2672
明胶制剂 525
模型拟合 2191
模制片 289
模制容器 1652
膜电极 120
膜滤器 517
膜泡转运 1258
膜渗透法 554
摩擦腐蚀 2558
摩尔取代度 551
默克索引 2131
木糖醇 2420

N

纳滤 517
纳米混悬剂 591
纳米粒 961，1423，1868
纳米囊 961
纳米球 961
纳米乳 1145
纳米微粒 673
钠钙玻璃 1650
耐蚀性 1653
耐用性 1169
囊泡 1488，1973
内标法 1178
内聚拱 434
内聚力 438
内流角 438
内切酶 1431
内转化 251
内转换 475
尼泊金乙酯 2608
尼龙 518
泥敷剂 641
逆转录酶 1431
黏冲 1014
黏弹性 1342，2444
黏度 2441
黏附性 769
黏附性水凝胶 1349
黏合剂 320，1012，1022，2503
黏膜给药 171
黏膜黏附 2019，2098
鸟氨酸 1805
尿素 861
柠檬酸 289，861，1487
柠檬酸三乙酯和四乙酯 765
凝沉 979
凝胶 976
凝胶给药系统 1599
凝胶剂 6，292，646，822，1473，2063
凝胶渗透色谱 1166
凝结 587
凝聚 990，1422
牛顿流体 2441
浓度极化 2560

O

欧盟 1003
欧洲药典 1632，1641，1654，1665，2131
欧洲药品评价委员会 1004，1066
欧洲专利局 2133

P

排泄 802
盘架式干燥 415
抛射剂 133，293，2276
泡核沸腾 2182
泡沫剂 1686，2063
泡沫凝胶 1222
泡腾反应 1008
泡腾粉末 334
泡腾片 289，1008
泡腾制剂 1008，1014
培养基 1439，1443
配电系统的接地 2556
配合作用 2149
喷气式撞击器 749
喷雾包衣法 1421
喷雾冻结法 781
喷雾干燥 391，399，585，797，1422，2207，2519
喷雾干燥喷雾凝结 2460
喷雾干燥乳糖 287
喷雾剂 293，654，2235
喷雾冷冻干燥 399
喷雾凝结 797，862，864
硼硅玻璃 1651
硼硅酸盐 518
碰撞黏附试验 769
皮肤过敏性试验 1744
皮肤用脂质体 1973
皮下控释植入剂 1989
皮下植入剂 1984
皮下注射 1256，1301
片剂 287，320，655，720，823，1018，1034，1471，1558，1687，1866，2264，2514
片剂处方 1018
片剂强度 1045
偏振光学显微镜法 2114
漂白剂 1597
平板型剪切池 441
平衡水分含量 1711
平衡透析法 1752
平行设计 1790
评价机构 1004
苹果酸 1487
破裂力 980
葡聚糖类 2421
葡萄糖 288，365，1487，2421
葡萄籽 1386

Q

气动采样器 743

气溶胶 51，2270
气雾剂 293，639，1686，2235
气相色谱 1171，1247，1702
起泡点试验 522
牵制流 1095
前体药物 664，785，821，1049，2003，2020
前药的化学活化 1050
潜溶 784，1054
潜溶剂 717，784，1054，2142
嵌合抗体 2343
强度光散射法 671
羟丙基-β-环糊精 376，555
羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯 756
羟丙纤维素 754，756，764，920，984
羟丙甲纤维素 755，756，764，861，984，2332
羟丙甲纤维素乙酸琥珀酸酯 764
羟基丁酸酯 292
羟乙基淀粉 365，838
羟乙基甲基丙烯酸酯 2048
羟乙基纤维素 292，754
羟乙酸淀粉钠 114，2338
侵蚀性腐蚀 2558
亲和色谱 1165
亲水-亲油平衡（HLB） 1135
亲脂性测定 1154
青霉胺 275
青霉酸 1796
氢氟烷 134
氢化蓖麻油 862
氢氧化铝 986
倾倒角 436
清洁工序 1229
清洁剂 1231
清洁验证 1229，1233，2431
氰丙烯酸丁酯 1225
氰丙烯酸异丁酯 1225
氰基丙烯甲酯 1225
琼脂 756
球形结聚法 2459
区带观察 1152
取代度 552
取样 240，742
取样器 240，340
龋齿 1590
去氧胆酸钠 361
全氟代溴辛烷 1502
全氟碳 376，1498，1503
群体药动学研究 1607

R

染色体组学 1238
热传递 410，2180
热导检测器 1173
热分析 1767
热固定型橡胶 2466
热机械分析 1074
热离子检测器 1173
热力学 879，884
热熔定律 1763
热熔挤出 1094
热塑型橡胶 2467
热显微镜法 1075
热向性液晶 2111
热原 1108，1669，2091
热运动 671
热重分析法 1073，1714
人参 1386
人血清蛋白 2672
人用药品评价机构 1004
人源抗体 2343
日本卫生福利省 1066
日本药典 1628，1632
容量常数 1753
溶出 1261，1265，2337
溶出度 424，428，532，557，721，1118
溶出度试验 1118，1263，1825，2550
溶出介质 1123
溶出曲线 1120
溶出速率 662
溶出仪 1119
溶剂沉淀 400
溶剂化多态现象 1764
溶剂挥发法 1422
溶解度 663，1054，1265，2136
溶蚀降解 2670
溶液/混悬液上药 2456
溶液剂 654，783，1472，1866，2078
熔解 881
熔融 426，779
熔融法制粒 1011
熔融-分散技术 796
熔融-挤出 863
熔融-凝结技术 864
熔融造粒法 779
熔融制丸法 2460
融合 6
肉豆蔻酸异丙酯 1459
蠕变试验 2445
乳膏 292，2063，2120
乳膏剂 1，643，822，1473
乳化剂 3，292，361，1129，2608
乳剂 292，644，1127，1473，1500，1685，2090，2122，2266，2450，2687
乳胶液 670
乳内制剂 1305
乳糖 322，365，861，2159，2337，2421
乳糖醇 2420
α-乳糖一水合物 288
软膏 2，1686，2120
软膏剂 1，292，649，822，1473，2266
软化点 1652
软胶囊 290，529，641，1141
润滑剂 287，291，320，435，589，1022，1011，1038，1131，1687，2507

S

噻汞撒 363
三联体密码 1431
三氯生 1594
三氧化二铁 290
三元乙丙胶 2465
三轴剪切试验仪 442
散剂 287，652
扫描电子显微镜 671
扫描透射电子显微镜 2501
色甘酸二钠 2119
色谱系统 2549
色谱柱 1163，1175
色散型红外光谱仪 453
杀菌剂 1659
筛板挤出机 613
筛分 744，2209
山梨醇 290，361，365，838，1131，1487，2160，2420
闪烁检测仪 252
商标 2627
舌下给药 2033
舌下片 289
设备清洁 1229

射出成形 611，1096
γ射线闪烁扫描技术 2238
伸长率 767
深层过滤器 517，2574
审批后的变更 1068
肾消除 1755
肾小球滤过率 1755
肿凡纳明 2119
渗透泵给药系统 290
渗透促进剂 821
渗透压调节剂 365
渗透压激活型给药系统 1989
渗透作用 671
生长因子白细胞介素 1242
生姜 1385
生物标记 929
生物产品 1238
生物传感器 1346
生物等效性 246，383，1264，1266，1788，1821，1975
生物发生 1794
生物敷料 1225
生物合成 1794
生物技术 276，1238
生物技术制剂 1474
生物利用度 245，383，557，1255，1264，1822，1824，1826
生物黏附 2098，1371
生物溶蚀调节型给药系统 1995
生物体鉴别 1432
生物体液分析 1246
生物响应型给药系统 1995
生物信息学 1939
生物验证 2394
生物药剂学 1255
生物药剂学分类系统 1020，1265，1822
生物医药分析 1246
生药学 2246
生育酚 363，2649
生育力试验 1741
生殖安全性 564
生殖毒理 150，1741
圣约翰草 1387
失效期 1065，1068
湿度比 414
湿度测定 2201
湿法制粒 287，1011
湿法制粒压片法 1035，2415
湿空气动力学 414
湿热灭菌法 2212
湿润剂 292，361
十八醇 292
十二烷基-*N*，*N*-二甲氨基异丙酸酯 1970
十二烷基硫酸镁 289，1011
十二烷基硫酸钠 288，289，361，1011
十六醇 292
石墨炉法 489
时辰药理学 2039
时间分辨荧光免疫分析法 955
时控触发型释药系统 2004
时控给药系统 2039
实验动物 283
实验室控制 914，1700
食品 544
食品药品管理局（FDA） 380
世界卫生组织 1277
手性 2291
手性固定相 2302
手性光学 1280，1285，1286
手性物质 1280
首过肠代谢 2015
首过代谢 904，1864，2032
首过肝脏代谢 2015
首过效应 904，1298，2081
受控生产过程 156
受体 1942
受体亚型 1948
兽药 1466
兽医用药 2065
兽用剂型 1294，1474
叔丁对甲氧酚 292
叔丁基对羟基茴香醚 362，1131
疏水作用色谱 1165
输液泵 2610
输液装置 2606，2610
树枝大分子包合 1327
树脂 2004
树状大分子 1321，1330
数据模拟 2190
数学模型 2188
漱口剂 291，1593
衰变常数 250
衰减全反射光谱 457
栓剂 293，612，654，1124，1472，1687，2063，2078
双剂量给药装置 1960
双抗体技术 951
双室青霉素瓶系统 2609
双特异性抗体 2344
双重不锈钢 2563
双轴测试仪 442
水飞蓟素 1387
水分 1710
水化激活型给药系统 1993
水胶体敷料 1224
水解 1832，1839
水解激活型给药系统 1994
水解明胶 361
水凝胶 977，1222，1339，2006，2100
水凝胶片 1223
水平鼓式混合器 233
水侵入试验 523
四极杆质谱 1707
松果菊 1384
速发型过敏反应 1972
速释制剂 2016
塑料 610，2565，2571，2609
酸化剂 129
髓鞘内给药 1860
羧甲基淀粉钠 38，288
羧甲基环糊精 556
羧甲基纤维素 754，755
羧甲基纤维素钠 288，292，361，764，983，1130

T

塌陷温度 836
坍塌 233
碳糊电极 1873
碳酸钙 1009
碳酸钾 1009
碳酸钠 1009
碳酸氢钾 1009
碳酸氢钠 1009
碳酸氢盐 289
碳酸盐 289
汤剂 643
糖锭剂 643
糖膏剂 643
糖浆剂 291，654
糖精 787，1487，2160
糖衣片 529
淘析器 749

特异质反应 1727
梯流 234
提取 2213
体积排阻色谱 1166
体内生物等效性 424
体内外相关性 1123，1265
体外毒性研究 1745
替代疗法 2244
替代药物 1381，2244
替代医疗 1381
替代制剂 1821
天冬氨酸 365
天冬酰胺 365
天然橡胶 2465
甜味剂 320，786，1012，1470，1487
填充层池 1874
填充剂 837，2466，2503
条例优先权 2628
调剂 1465
调剂设备 1469
调节剂量 1783
调频光谱 1704
调制管理规范 1468
萜 1459，1801
铁素体不锈钢 2562
同质异能转换 251
统计过程控制 1394
透明质酸 755，756，757，982，1226，2672
透皮促渗剂 1970
透皮给药 174，185，666，870，1861，1969
透皮贴剂 1125，2121
透皮吸收 209，1311
透气薄膜 1221
透射电子 2500
透射电子显微镜 671，2115，2501
涂擦剂 647
吐温 80 361
吐温 20 361
退火 1652
褪黑激素 1387
吞噬 1258
脱玻现象 1647
脱氢表雄甾酮 1384
脱水山梨糖醇酯 292
脱乙酰壳多糖 2672
脱脂麦斯林纱 1220
脱脂棉吸收剂 1220

W

外包 58，1844，2485
外标法 1154，1178
外观设计权 2627
外科吸收剂 1220
外肽酶 1359
丸剂 2512
完整性试验 19，521，1479
网状内皮系统 673
往复管法 1122
危险化学品 1416
微波干燥 418
微储库分配控释给药系统 1987
微粉硅胶 287
微粉化 391，584，1129
微剂量片 294
微晶纤维素 288，289，292，2158，2337，2419
微孔过滤 517
微粒释放试验 521
微量电泳 2683
微量热法 554，884，1073，1080
微囊 796，920，995，997，1421
微球 289，673，997，1364，1420，2671
微乳 5，673，1127，1136，1145，1686，2450，2610
微生物 1108
微生物监控 17，156
微生物检测 1433
微生物控制 1665
微生物限度试验 16，19，1670
微透析法 1752
微针 1974
维持剂量 1777
维生素 C 1009
维生素 E 2649
伪多晶态 1079
胃肠运动 2013
胃排空 1259，1862，2325
胃滞留系统 2018
文档管理 1449
稳定剂 839
稳定性试验 1065
稳态表观分布容积 1754
无定形沉淀 428
无定形水凝胶 1223
无定形态 1079
无菌 913，1665，2091
无菌保证水平 1667
无菌操作 23，1425，1438
无菌灌装 1440，1476，1478
无菌规范 2391
无菌过滤 2213
无菌结晶技术 2090
无菌生产 1438，2231
无菌试验 16，19，1665
无水乳糖 287
无针注射 1974，2610
无纸文档系统 1448
物理靶向 2348
雾化剂 388

X

西黄蓍胶 288，291，292
西林瓶 2608
吸附 1681，1710
吸附等温线 1711
吸附剂 287，1711
吸管剂 1958
吸入给药 399，1861，1963，2270
吸入剂 646
吸入性溶液剂 1473
吸湿等温曲线 1887
吸湿性 1890
吸收 801，1710，1864
吸收促进剂 200，1459，1867，2021，2084，2156
吸收电子 2501
吸水性 1887
吸油量 2267
吸着剂 1711
稀释剂 287，320，1035，2416
洗剂 291，648，822
系统适用性试验 306
细胞治疗 1238，1241
细菌内毒素 19，1108，1111，1669
细菌挑战性试验 520，1479
细菌抑制 1659
先导优化技术 1919
纤维性吸收剂 1220
现场清洗 1478
线性 1169，1413
相对生物利用度 246，1821
相对湿度 414，1890
相分离 990
相溶解度法 553

相图 860
相转变 413
相转变温度法 1135
香料 1470，1481
香味 1481
项目管理 1490，2548
橡 胶 137，610，1342，2095，2565
橡皮膏剂 651
消毒剂 1659
消泡剂 1012
消旋化 2291
消旋体 2291
硝酸锶 1973
硝酸纤维素 518
小分子免疫测定验证 930
小容量注射剂 2088，2095，2606
校正片 1122
协同转运 1865
新药申请 382
性能确认 1233，2425
休止角 436，438
酰剂 291，654
絮凝 586，1132，1133，2688
絮凝剂 589
旋风分离器 749
旋光测定 1280
旋光色散 1280，1281
旋转齿轮挤出机 614
选择性浸出 2558
雪花膏 292
血根碱 1594
血管输入装置 2606
血红蛋白 1513，1514
血液替代品 1498，1513

Y

压大片法 2486
压紧比 438
压力流 1095
压力维持试验 522
压片 1013，1546，1558
压片机 1546，1560
压缩系数 437
牙膏 1592，1595
牙科用品 1590
亚单位疫苗 2309
亚急性、亚慢性和慢性毒性试验 1739
亚硫酸氢钠 2608
亚慢性和慢性毒理 149
延迟释放制剂 289
延缓制剂 1123
延展性权利要求 2637
掩味 864
眼部给药 172，219，666，969，2103，2048
眼膏剂 649
眼用控释植入剂 1982
眼用溶液剂 654
眼用软膏 2
眼用制剂 1062，1473，2088
杨氏模量 2441
杨氏系数 767
氧化 1830
氧化-还原滴定 102
氧化还原检测器 1175
氧化铁 765
药代动力学 907，1606，1788，2061，2189
药典标准 1628，1641
药典的协调 1633
药动学 1780，2126，2297
药理基因组学 1939
药品 245，544
药品的保存 1658
药品临床试验管理规范 1692
药品生产质量管理规范 15，1697
药品主文件 1723
药物 245，1416
药物安全性评价 1736
药物不良反应 803，915，1727
药物不耐受 1727
药物成瘾性 1928
药物代谢 211
药物蛋白结合率 1752
药物的暴露程度 902
药物的分布容积 900
药物的临床评价 1786
药物的清除率 897
药物的生物转化 1829，2298
药物动力学 246，801，2549
药物分布 210，900
药物降解 1771
药物开发 1490，1900，1910，1918，2476
药物滥用 1927
药物设计 73，1935
药物输送 1347，1957，1969，1981，2000，2012，2030，2039，2048，2056，2078，2088，2098，2111，2324，2343
药物索引 2131
药物稳定性 1061
药物吸收 1261，1860，2031
药物相互作用 805，1758，1788，2125
药物信息 2131
药物研发 623，1787
药物遗传学 906
药物治疗错误 2166
药效的耐受性 897
药效试验 1789
药效学 802，896，1783
药效学相互作用 2126
药学数据 2188
药用辅料 2219，2224
夜来香油 1385
液晶 2114，2117
液态晶体 2450
液体闪烁体 253
液体填充 2336
液体制剂 290，783，2122
液雾剂 2270
液向性液晶 2112
液质联用 1251
液状石蜡 2，289
医疗保健体制 936，944
医师的案头参考 2131
依从性 2441
依数性 2376
仪器化 1566
酏剂 291，644
胰液 1863
遗传因素 1910
乙醇 287，290，1062，1459，2608
乙二胺四乙酸盐 2608
乙二醇 765
乙基丙烯酸和甲基烯酸甲酯共聚物 862
乙基纤维素 274，289，756，764，993
乙交酯/1，5-二噁庚烷-2-酮共聚物 758
乙交酯/环丙烷碳酸酯共聚物 758
乙交酯/ε-己内酯共聚物 758
乙交酯和聚对苯二羟乙酸乙二酯共聚物 758

乙酸酯 518
乙烯-丙烯胶 2465
乙烯-乙酸乙烯共聚物 1982
乙酰化反应 1835
异丙醇 287，290
异构体 2290
抑菌剂 1658，1659
易化扩散 1865
疫苗 2307
阴道给药 173，1862，2104，2056
阴道制剂 2063，2066
银杏 1385
引温性 1711
引物 1431
饮剂 291
隐形眼镜 726，1344
应变点 1652
应急电源 2555
应力 2440
应力裂缝腐蚀 2559
应力-张力应变试验 767
英国国家处方集 2131
英国药典 1665，2131
荧光 475
荧光淬灭 1706
荧光法 554
荧光检测器 1167
荧光免疫分析 954，1251
荧光偏振免疫分析 954
荧光效率 476
荧光原位杂交 1432
营养补充品 1382
硬度系数 2441
硬胶囊 290，527，794，2265，2332
硬胶囊剂 1687
硬脂酸 289
硬脂酸钙 289
硬脂酸镁 287，289，435，1011，2339
硬脂酸钠 1011
硬脂酰富马酸钠 289，1011
油膏剂 2266
油剂 649
游离水 1711
有效期 548，1469，2549
右旋葡萄糖 287
右旋糖酐 754，756，2672
鱼精蛋白硫酸盐 757
预混剂 2609
预胶化淀粉 288，2421
预验证 2424
预装注射器系统 2609
原位泡沫 1222
原子吸收光谱法 488
圆二色谱法 275，554
圆二色性 1280，1282
圆盘-模具挤压机 612
圆盘撞击器 53
圆形或环形剪切池 441
运动学黏度 2441
运行确认 620，1233，2425

Z

再验证 2424
在线清洁 1229，1230，2490
在线蒸汽灭菌 1478
藻酸盐 288，291，754
皂土 291，292
造粒 863
增稠剂 292，589，733，788
增溶 1327，2136
增溶剂 135，361，1684，2085，2092
增塑剂 765，919，1097，1142
增味剂 1487
展膏剂 648
张力 2375，2440
张力调节剂 733，2094
张力速率 2440
召回程序 1677
遮光剂 1142
遮味剂 1487
折光检测器 1167
蔗糖 129，287，288，365，787，840，1487，2160
蔗糖乙酸异丁酸酯 376
真空干燥 418
振动弛豫 475
振动膜喷雾器 2284
振实堆密度 437
蒸发 2198，2384
蒸发光散射检测器 1168
蒸馏 2199，2575
蒸气压激活型给药系统 1992
蒸气蒸馏 2199
蒸汽灭菌法 1668，2391
正电子发射断层成像术 254
正链 1431
正相色谱 1163
芝麻油 2608
知识产权 2627
脂多糖 1109，1669
脂肪酸 1796
脂肪酸二聚体-癸二酸共聚物 2675
脂质分散体 2120
脂质体 673，1364，1868，1686，2112，2689
脂质体免疫分析法 957
直肠给药 173，210，219，666，1124，1366，1862，2078
直接可逆的药理应答 1780
直接压片 1011，1041，2265，2415
直链淀粉 287，755
职业接触浓度 1419
植入剂 794，2524，1982
植物 2243
植物药 2244
纸色谱法 554
指示电极 1870
制菌注射用水 2608
制粒 918，1013，1036，2487
制丸技术 2454
制药经济学 1603
制药设备 2557，2568
质量保证 282，1673，2410
质量传递 2184
质量计划过程 2412
质量控制 15，912，2410
质量迁移 412
质量体系 2410
质量中间直径 390
质谱 74，494，1795
治疗指数 897
治疗置换 248
致癌 151，564，1743，2652
致癌性试验 2399
致畸胎 1741
致突变 150，564，1740
中和滴定 101
中间相 2111
中试工厂 2581，2592
中试生产 2427
重现性 1404
重组 DNA 1238，1239
重组载体疫苗 2308
轴向分层 237
主动转运 1258
助流剂 287，320，435，1038，1687

助溶剂 360，2089
助悬剂 292，361，589
注射给药 2088，2605
注射剂 360，646，1062，2613，2604
注射剂包装 2608
注射剂胶塞 2467
注射用乳剂 1500
注射用水 2089，2092，2573，2608
注射用油 2089
柱塞式挤出机 607
柱上进样 1174
专家系统 2359
专利 2627，2636
专属性 304，306，1168
转碟法 1122
转动滤器固定篮法 1122
转基因 1238
转筒挤出机 613
转子-定子高压均质机 738
撞锤挤出机 615
准确度 1168
着色剂 129，291，292，320，545，765，787，1012，1142，1470，2253，2259，2466
资料与信息管理系统 2543
紫外分光光度法 554
紫外-可见光检测器 1167
自调节型给药系统 1995
自动进样 1174
自然老化 772
自氧化 1702，2645
自由基 2646
组氨酸 365，1817
组合化学 1238，1241，1936
组合生物合成 1795
组合有机合成 1936
组织黏合剂 1225
最大耐受剂量 1743，1788
最优化方法 2658
遵从性 811
佐剂 147，2311

其他

Acutrim®片 1990
AeroDose 2284
AeroEclipse 2282
AERx 2282
AIR™颗粒 400
Alzet®渗透泵 1990
Andersen 惯性撞击器 142
Azone 1970
Beer-Lambert 506
BIOSIS 2132
Boots 系统 2360
Cadila 系统 2361
CAplus 2132
Capsugel 系统 2364
CBER 1723
CDER 1723
cDNA 1431
CDRH 1723
CELLEDIRM 1973
Cosmederm-7™ 1973
CRF 890，1787
CSFAN 1723
CVM 1723
D，L-丙交酯-乙交酯共聚物 2670
DDAIP 1970
DLVO 理论 672，1133
DMF 类型 1724
DNA 探针 1430，1431
DNA 微阵列 1939
DNA 芯片 1939
DNA 疫苗 2310
dsDNA 1431
D 值 405
EDTA 275，362
EMBASE 2132
Eudragit L 274
Eudragit L30D 919
Eudragit NE30D 919
Eudragit RL 919
Eudragit RS 919
Faraday-Tyndall 效应 671
FD&C 法案 2259
FDA 67，153，263，544，565，618，911，1266，1443，1453，1723，1732，1383，2219，2254
F_H 值 405
Fick 扩散 2673
Fick 扩散定律 1257
Fluosol 1502
Formulogic 2359
Galenical 开发系统 2361
GCP 1674，1678
GMP 911，1229，1676
HaloLite 2283
HBOC-201 1521
Hill 方程 896
Hovine FlowCaps® 402
HPE-101 1970
HPMC 288，289
Innova™ 401
IPA 2132
Jenike 剪切池 441
Karl Fisher 滴定 1716
Macro-Derms 1972
Macroflux 1974
Medicaid 937
Medicare 937
MEDLINE 2131
Michaelis-Menten 方程 904
Mohr 圆分析 440
Nitro-Dur®系统 1984
N-甲基吡咯烷酮 1459
2-*n*-壬烷基-1，3-二氧戊环 1970
Ostwald 阶段定律 682
Oxygent AF0144 1504
PCR 1431
PDS 和 *l*-丙交酯的共聚物 758
PDS 和乙交酯的共聚物 758
PEG 365，756，1062，1142
PEG 60 蓖麻油 361
PEG 40 蓖麻油 361
Pharm-line 2132
pH 调节剂 733
pH 激活型给药系统 1994
pH 敏感型水凝胶 1342，1349
PLGA 376
PNA 寡聚体 1431
Polyolprepolymer 1972
Pulmosphere™ 400
QC 部门 1676
Randall-Selitto 分析 147
Respimat 2281
Sanofi 系统 2365
SEPA 1970
SkyePharma 401
Solo™ 401
Spiros® S2 402
Sprowls 法 2382
ssDNA 1431
S-腺苷甲硫氨酸 1387
Twisthaler® 402
USP 纯化水 2573
Van Deemter 方程 1172

White-Vincent 法　2382
Wurster 包衣　2456
X 射线粉末衍射法　1717，1534
X 射线光子　2500
X 射线晶体学　1935
X 射线散射　630，1766，2115
X 射线衍射法　865
X 射线衍射晶体学　1238
Zeneca 系统　2366
ZETA 电位　2683